

# **Význam vlákniny ve výživě člověka a metody jejího stanovení v mořských a sladkovodních řasách**

Bc. Petra Žáková

---

Diplomová práce  
2008



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav potravinářského inženýrství

akademický rok: 2007/2008

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Petra ŽÁKOVÁ**

Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Význam vlákniny ve výživě člověka a metody jejího stanovení v mořských a sladkovodních řasách**

Zásady pro vypracování:

1. Řasy jsou významným zdrojem vlákniny.
2. Zjistěte možnosti jejího stanovení a vyberte nejvhodnější metodu pro tuto surovinu.

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. MCHUGH, Dennis. A guide to the seaweed industry. University of New South Wales, Australian Defence Force Academy, Canberra, Australia, 2003. ISBN: 92-5-104958-0.
2. DAWCZYNSKI, CH., SCHUBERT, R., JAHREIS, G. Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. Food Chemistry 2007. 103, 891-899.
3. ORTIZ, J., ROMERO, N., ROBERT, P., ARAYA, J., LOPEZ-HERNANDEZ, J., BOZZO, C., NAVARRETE, E., OSORIO, A., RIOS, A. Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. Food Chemistry 2006. 99, 98-104.
4. VELÍŠEK, Jan. Chemie potravin 1. 1 vyd. Praha: OSSIS, 1999. ISBN: 80-902391-3-7.

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Ladislava Mišurcová**

Ústav potravinářského inženýrství

Datum zadání diplomové práce:

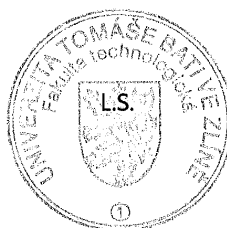
**13. listopadu 2007**

Termín odevzdání diplomové práce:

**31. května 2008**

Ve Zlíně dne 2. května 2008

doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.  
*děkan*



v.z.   
prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.  
*vedoucí katedry*

## **ABSTRAKT**

Vláknina je důležitou nutriční složkou potravy. Cílem diplomové práce bylo zjistit možnosti stanovení vlákniny v mořských a sladkovodních řasách a vybrat nejvhodnější metodu pro tuto surovinu. Vláknina byla stanovena oxidační hydrolyzou, metodou podle Henneberg-Stohmanna a enzymaticky.

Klíčová slova: vláknina, mořské řasy, sladkovodní řasy, stanovení.

## **ABSTRACT**

The dietary fibre is an important nutritive component of food. The aim of the graduation theses was to discover possibilities of the dietary fibre determination in seaweeds and freshwater algae and to choose the optimal method for this raw materials. The dietary fibre was determined by the oxidative hydrolysis, the method after Henneberg–Stohmanna and the enzymatic method.

Keywords: dietary fibre, seaweeds, freshwater alga, determination.

Děkuji paní Ing. Ladislavě Mišurcové za odborné rady a čas, který mi věnovala a za spolupráci v průběhu vypracování této diplomové práce. Děkuji též panu doc. Ing. Stanislavu Kráčmarovi, DrSc. za pomoc při statistickém vyhodnocení diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat paní Ing. Martě Severové za rady a připomínky. Děkuji též paní Jaroslavě Řemenovské za poskytnuté informace a vhodné připomínky a rady při práci v laboratoři a všem zaměstnancům Ústavu potravinářského inženýrství za rady a připomínky.

Prohlašuji, že jsem na diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků, je-li to uvolněno na základě licenční smlouvy, budu uvedena jako spoluautorka.

Ve Zlíně, 14.05. 2008

.....

Podpis diplomanta

# OBSAH

ÚVOD.....	9
<b>I TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>10</b>
1 VLÁKNINA .....	11
1.1 DEFINICE VLÁKNINY .....	11
1.2 DĚLENÍ VLÁKNINY.....	11
1.2.1 Nerozpustná vláknina.....	12
1.2.2 Rozpustná vláknina .....	12
1.3 ČLENĚNÍ DIETNÍ VLÁKNINY .....	13
2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ VLÁKNINY .....	14
2.1 CELULOSA.....	14
2.1.1 Struktura celulosy.....	14
2.1.2 Výskyt celulosy .....	15
2.1.3 Vlastnosti celulosy .....	15
2.1.4 Fyziologie a výživa.....	15
2.2 HEMICELULOSY .....	15
2.2.1 Heteroglukany .....	16
2.2.2 Heteroxylany .....	16
2.3 PEKTINY .....	17
2.3.1 Struktura pektinů.....	17
2.3.2 Výskyt pektinů .....	17
2.3.3 Fyziologie a výživa.....	18
2.4 LIGNIN.....	18
2.4.1 Struktura ligninu.....	18
2.5 ROSTLINNÉ GUMY A SLIZY.....	19
3 FYZIOLOGICKÉ ÚČINKY VLÁKNINY .....	20
3.1 POZITIVNÍ ÚČINKY VLÁKNINY.....	20
3.2 PREBIOTICKÉ ÚČINKY VLÁKNINY.....	21
3.3 ÚČINEK VLÁKNINY NA TENKÉ STŘEVO.....	22
3.4 ÚČINEK VLÁKNINY NA TLUSTÉ STŘEVO .....	22
3.5 VLIV VLÁKNINY NA METABOLISMUS CHOLESTEROLU .....	23
3.6 VLIV VLÁKNINY NA HLADINU GLUKOSY V KRVÍ.....	23
3.7 NEGATIVNÍ ÚČINKY VLÁKNINY .....	24
4 VÝŽIVOVÁ DOPORUČENÍ .....	25
5 ZDROJE VLÁKNINY .....	26
6 ŘASY .....	28

6.1	ROZDĚLENÍ ŘAS.....	28
6.2	MOŘSKÉ HNĚDÉ ŘASY ( <i>PHAEOPHYCEAE</i> ).....	29
6.2.1	Arame ( <i>Eisenia bicyclis</i> ).....	29
6.2.2	Hiziki ( <i>Hizikia fusiformes</i> ).....	29
6.2.3	Kombu ( <i>Laminaria japonica</i> ).....	30
6.2.4	Wakame ( <i>Undaria pinnatifida</i> ).....	30
6.3	MOŘSKÉ ČERVENÉ ŘASY ( <i>RHODOPHYCEAE</i> ).....	31
6.3.1	Dulse ( <i>Palmaria palmata</i> ).....	31
6.3.2	Nori ( <i>Porphyra tenera</i> ).....	32
6.4	SLADKOVODNÍ ŘASY.....	32
6.4.1	Chlorella ( <i>Chlorella pyrenoidosa</i> ).....	32
6.4.2	Spirulina ( <i>Spirulina pacifica</i> ).....	33
6.5	VÝŽIVOVÁ HODNOTA ŘAS.....	33
6.6	POLYSACHARIDY MOŘSKÝCH ŘAS.....	34
6.6.1	Agary.....	34
6.6.2	Karagenany.....	35
6.6.3	Furcellaran.....	36
6.6.4	Algin.....	37
7	STANOVENÍ VLÁKNINY.....	39
7.1	VÝVOJ METOD STANOVENÍ VLÁKNINY.....	39
7.1.1	Gravimetrické metody.....	39
7.1.2	Chemické metody.....	40
7.1.3	Enzymatické metody.....	40
7.2	STANOVENÍ VLÁKNINY OXIDAČNÍ HYDROLÝZOU.....	41
7.3	STANOVENÍ VLÁKNINY PODLE HENNEBERG–STOHMANNA.....	41
7.4	STANOVENÍ VLÁKNINY ENZYMATICKY.....	41
<b>II</b>	<b>PRAKTICKÁ ČÁST.....</b>	<b>42</b>
8	CÍL PRÁCE.....	43
8.1	POUŽITÉ MATERIÁLY.....	43
8.2	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A POMŮCKY.....	44
8.2.1	Seznam použitých chemikálií.....	44
8.2.2	Laboratorní pomůcky.....	45
8.3	POSTUP PRÁCE.....	46
8.3.1	Stanovení sušiny.....	46
8.3.2	Stanovení vlákniny oxidační hydrolýzou.....	46
8.3.3	Stanovení vlákniny podle Henneberg–Stohmanna.....	47
8.3.4	Enzymatické stanovení vlákniny.....	48
9	VÝSLEDKY A DISKUSE.....	52

9.1	STANOVENÍ SUŠINY .....	52
9.2	STANOVENÍ VLÁKNINY OXIDAČNÍ HYDROLÝZOU .....	53
9.3	STANOVENÍ VLÁKNINY PODLE HENNEBERG–STOHMANNA .....	54
9.4	ENZYMATICKÉ STANOVENÍ VLÁKNINY.....	55
9.5	VYHODNOCENÍ POUŽITÝCH METOD .....	59
	ZÁVĚR .....	61
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	62
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	68
	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	70
	SEZNAM TABULEK.....	71



## ÚVOD

Vláknina je významnou funkční složkou a podstatou balastních látek, nacházející se hlavně v povrchových vrstvách všech rostlinných produktů, v obilovinách, v luštěninách, v olejninách, v bramborech, v ovoci a v zelenině. Pod pojem vláknina potravy (ang. dietary fibre) byly původně zahrnovány všechny složky odolné vůči štěpení enzymy zažívacího ústrojí, tedy látky na bázi celulos, hemicelulos, pektinových látek a lignin. V současné době se jí rozumí všechny polysacharidy, které nejsou využitelné v trávicím ústrojí, tedy počítají se tam i tzv. rezistentní škroby, což jsou nestravitelné části přírodního škrobu.

Vláknina nepatří mezi živiny s energetickou hodnotou, přesto tvoří významnou složku naší potravy. Prochází zažívacím ústrojím, aniž by byla rozložena a absorbována, což je hlavní důvod, proč je vláknina tak důležitá. Vláknina se podle rozpustnosti dělí na rozpustnou a nerozpustnou. V potravinách, které obsahují vlákninu jsou přítomny oba tyto typy v různých poměrech. Dobrým zdrojem rozpustné vlákniny je oves, ječmen, ovoce, zelenina a luštěniny (fazole, čočka, cizrna). Bohatým zdrojem nerozpustné vlákniny je celozrnné pečivo, ořechy, zelenina a slupky některých druhů ovoce.

Význam vlákniny pro lidský organismus spočívá především v její ochranné funkci proti civilizačním chorobám. Může se pozitivně podílet na prevenci a léčbě obezity, chronické zácpy, cukrovky, divertikulosy tlustého střeva, eventuálně zánětu tlustého střeva, rakoviny tlustého střeva či kardiovaskulárních onemocnění. Důležité je si uvědomit, že vláknina přispívá jako preventivní faktor mnoha chorob, avšak tyto choroby neléčí.

Ve své diplomové práci jsem se zabývala obsahem vlákniny v mořských a sladkovodních řasách. Teoretická část se zabývá definicí a dělením vlákniny, jejím chemickým složením a fyziologickými účinky. Dále jsem se zabývala charakteristikou řas, jejich polysacharidy a metodami stanovení vlákniny. Praktická část popisuje použité materiály, chemikálie a postupy při stanovení vlákniny v různých druzích řas. Byla vyhodnocena nejvhodnější metoda pro stanovení vlákniny v řasách.

## TEORETICKÁ ČÁST

# 1 VLÁKNINA

## 1.1 Definice vlákniny

Termín vláknina byl použit již v roce 1953 a její definice od té doby prošla řadou změn a úprav formálních i obsahových. Původně byly pod pojem vláknina zahrnovány celulosa a lignin, které tvořily tzv. hrubou vlákninu (ang. crude fibre). Pokud se k této skupině přidaly hemicelulosity a pektiny, pak se mluvílo o tzv. potravinové vláknině (také dietní vláknině, ang. dietary fibre). [1, 2]

Vlákninu je možné podle vyhlášky č. 450/2004 Sb. definovat jako rostlinné a živočišné složky potravy, které nejsou hydrolyzovatelné endogenními enzymy trávicího ústrojí.

V roce 1998 schválila American Association of Cereal Chemists (AACC) novou definici vlákniny: „Vlákninu potravy tvoří jedlé části rostlin anebo analogické sacharidy, které jsou odolné vůči trávení a adsorpci v lidském tenkém střevě a jsou úplně anebo částečně fermentované v tlustém střevě. Vláknina potravy zahrnuje polysacharidy, oligosacharidy, lignin a další rostlinné složky. Vláknina potravy vykazuje prospěšné fyziologické účinky: např. laxativní, snižující hladinu cholesterolu v krvi, snižující hladinu glukosy v krvi.“ [1, 3, 4]

Současně s definicí vlákniny potravy byly charakterizovány složky vlákniny potravy:

1. Neškrobové polysacharidy a rezistentní oligosacharidy – celulosa, hemicelulosa, polyfruktosany, galaktooligosacharidy, gumy, slizy a pektiny,
2. analogické sacharidy – nestravitelné dextriny, syntetické sloučeniny na bázi sacharidů (polydextrosa, metylcelulosity, hydroxypropylmethylcelulosa, nestravitelný-rezistentní škrob),
3. lignin,
4. složky doprovázející komplexy neškrobových polysacharidů a ligninu v rostlinách – vosky, fytáty, kutin, saponiny, suberin, taniny. [2]

## 1.2 Dělení vlákniny

Podle rozpustnosti ve vodě se potravinová vláknina dělí na:

- Nerozpustnou vlákninu,
- rozpustnou vlákninu. [5]

### 1.2.1 Nerozpustná vláknina

Hlavní složkou nerozpustné vlákniny je celuloza, část hemicelulos a lignin.

Dobrymi zdroji nerozpustné vlákniny jsou zejména celozrnné pečivo, semínka, ořechy, pšeničné, rýžové a kukuřičné otruby, dále zelenina jako zelené fazole, květák, cuketa, celer a slupky některých druhů ovoce a rajčat. [6, 7, 8]

Účinky nerozpustné vlákniny:

- Nezvětšuje po požití svůj objem a nevytváří viskosní roztoky,
- nemá vliv na kyselost žaludečního obsahu a na vyprazdňování žaludku,
- v dostatečných dávkách urychluje střevní pasáž a zlepšuje střevní peristaltiku,
- zvyšuje objem stolice a zadržuje v ní vodu. [9]

### 1.2.2 Rozpustná vláknina

Hlavní složkou rozpustné vlákniny je pektin, část hemicelulos, rostlinné slizy, polysacharidy mořských řas, modifikované škroby a modifikované celulosy.

Rozpustná vláknina je obsažena v luštěninách (hrách, sójové boby, fazole), v ovoci (především jablka a banány), v zelenině (brokolice, mrkev). Dalšími dobrými zdroji rozpustné vlákniny je také ječmen, oves, žito, psyllium (semínka jitrocele blešníkovoého). [6, 7, 8]

Účinky rozpustné vlákniny:

- Po požití absorbuje vodu a zvětšuje tak svůj objem,
- v žaludku mírně snižuje kyselost žaludečního obsahu a zpomaluje jeho vyprazdňování,
- navozuje pocit plnosti žaludku a celkové sytosti,
- působí jako výživa sacharolytických bakterií v tlustém střevě, funguje jako prebiotikum,

- snižuje vstřebávání sacharidů, tuků a žlučových kyselin,
- zvětšením objemu a změkčením střevního obsahu usnadňuje vyprazdňování,
- má ochranný účinek na sliznice zažívacího ústrojí. [9, 10, 11]

### 1.3 Členění dietní vlákniny

Dietní vláknina se dělí do několika látkových tříd, které jsou rozdílné svými chemickými a fyzikálními vlastnostmi, ale také svými fyziologickými funkcemi (tab.1). Na toto členění dietní vlákniny je dnes pohlíženo jako na základní složku, jejíž nutriční hodnota je srovnána s vitaminy a minerály. [12]

Tab. 1. Členění dietní vlákniny. [12]

<b>Nerozpustná dietní vláknina</b>	<b>Rozpustná dietní vláknina</b>	<b>Nestravitelné oligosacharidy</b>	<b>Odolný škrob</b>
Celulosa, nerozpustná hemicelulosa	Pektiny	Oligofruktosa	Škrobové frakce
Nerozpustné pentosany	Glukany	Fruktany	
Protopektiny	Rozpustné pentosany		
Lignin			

## 2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ VLÁKNINY

Vláknina je složena z polysacharidů, které je možné z nutričního hlediska rozdělit na:

- Využitelné,
- nevyužitelné.

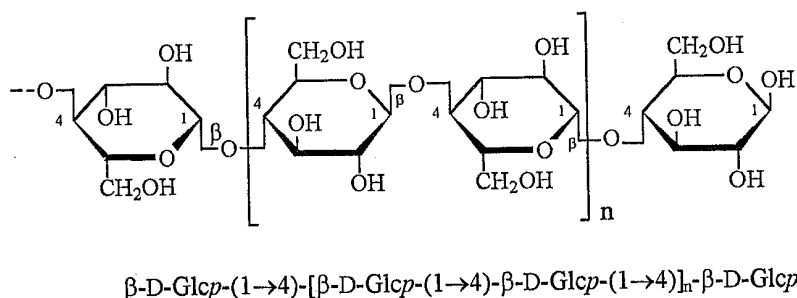
Za využitelné polysacharidy se považují rostlinné škroby a živočišný glykogen. Mezi nevyužitelné polysacharidy se řadí celulóza, hemicelulózy a pektin, dále polysacharidy používané jako aditivní látky (polysacharidy mořských řas, mikrobiální polysacharidy, rostlinné gumy a slizy, modifikované polysacharidy), lignin a z živočišných polysacharidů chitin. Souhrnně se tyto látky nazývají sice nepřesným a obtížně definovaným, avšak všeobecně rozšířeným termínem vláknina nebo také vláknina potravy. [6]

### 2.1 Celulóza

Celulóza je v přírodě nejrozšířenější organickou sloučeninou. Vyskytuje se jako základní strukturální polysacharid buněčných stěn vyšších rostlin. Nachází se také v zelených řasách, houbách a výjimečně i ve stěnách buněk jednoduchých mořských bezobratlých živočichů. [6]

#### 2.1.1 Struktura celulósy

Homoglukan celulóza je vysokomolekulární lineární polymer D-glukosových jednotek vázaných glykosidovými vazbami  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4). Každá z vázaných glukosových jednotek v řetězci je otočena vzhledem k předchozí a v této poloze je udržována intramolekulárními vodíkovými vazbami mezi hydroxyskupinami na C-3 a kyslíkem pyranosového cyklu a mezi hydroxyskupinami na C-2 a C-6. [6]



Obr. 1. Primární struktura celulósy. [6]

### 2.1.2 Výskyt celulosy

Celulosa tvoří v potravinách značný podíl neškrobových polysacharidů, které jsou zahrnovány do nerozpustné vlákniny. Její obsah závisí na druhu, v ovoci a zelenině je obsaženo přibližně 1-2 % celulosy, v obilovinách a luštěninách 2-4 %, v pšeničné mouce jen 0,2-3 % (podle stupně vymletí), ale v otrubách i 30-35 %. Celulosa také tvoří 40-50 % dřevní hmoty, 80 % lněných a 90 % bavlněných vláken. [6]

### 2.1.3 Vlastnosti celulosy

Celulosa je nerozpustná ve vodě, zředěných kyselinách, zásadách a většině rozpouštědel. Rozpouštědla však pronikají do přístupnějších amorfních oblastí mikrofibril a dochází k bobtnání. Celulosa se rozpouští v koncentrovaných kyselinách, neboť podle podmínek (koncentrace kyseliny, teplota) dochází k hydrolyze na rozpustné složky s kratším řetězcem - disacharid cellobiosu, případně až na D-glukosu. V roztocích hydroxidů je bobtnání intenzivnější než ve vodě a v kyselých roztocích při vyšších teplotách dochází k hydrolyze, případně k oxidaci. [6]

### 2.1.4 Fyziologie a výživa

Celulosa je štěpena komplexem celulolytických enzymů některých mikroorganismů (bakterií a plísní) a hub nazývaných celulasy, které v přírodě rozkládají odumřelé buňky.

Obratlovci nemají vlastní celulasy, avšak trávicí ústrojí býložravců obsahuje symbiotické bakterie, které celulolytické enzymy produkují, proto je celulosa pro tyto živočichy využitelným polysacharidem. Člověk nemá celulolytické enzymy a celulosa je pro něj nevyužitelná. Celulosa s dalšími polysacharidy tvoří vlákninu, která je důležitou a prospěšnou složkou potravy s laxativním účinkem. [6]

## 2.2 Hemicelulosy

Termín hemicelulosy je společným názvem pro strukturní necelulosové polysacharidy buněčných stěn rostlin, které vyplňují prostory mezi celulosovými vlákny.

Mezi hemicelulosy se řadí dvě hlavní skupiny polysacharidů:

- Heteroglukany,

- heteroxylany. [6]

### 2.2.1 Heteroglukany

Hlavními strukturními heteroglukany, které se řadí mezi hemicelulosy jsou:

- Xyloglukany,
- $\beta$ -glukany. [6]

#### XYLOGLUKANY

Základem molekul xyloglukanů je  $\beta$ -D-(1 $\rightarrow$ 4)-glukan (celulosa) s jednotkami D-xylopyranosy v postranních řetězcích, které jsou vázány na glukosu  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6) glykosidovými vazbami.

Xyloglukany hemicelulosového typu jsou dominantními hemicelulosami buněčných stěn dvouděložných rostlin, kam se řadí ovoce, většina zelenin, okopaniny a luštěniny. U jednoděložných rostlin, kam náleží některé zeleniny (cibulové zeleniny, chřest) a především obiloviny, jsou přítomny v menším množství. Xyloglukany jsou z větší části nerozpustné složky vlákniny. [6]

#### $\beta$ -GLUKANY

Polysacharidy nazývané  $\beta$ -glukany, také  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3), (1 $\rightarrow$ 4)-D-glukany nebo  $\beta$ -glukany se smíšenými vazbami se nacházejí v buněčných stěnách vyšších rostlin a ve větším množství v semenech některých obilovin (ječmen, oves).

Vyskytují se v malé míře v pšenici a žitu u nichž tvoří 0,2-2 % hmotnosti zrna, v neloupaných zrnech rýže 1-2 %. V evropských i amerických odrůdách ovsa je jejich obsah dnes vyšší, je jich 3,2-6,8 % a v sladovém i krmném ječmeni 3-7 %.  $\beta$ -glukany jsou zčásti rozpustnou a částečně nerozpustnou vlákninou potravy. [6]

### 2.2.2 Heteroxylany

Hlavní řetězec heteroxylanů je tvořen D-xylanopyranosovými jednotkami vzájemně vázanými vazbami  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4). Terminální jednotkou je  $\alpha$ -L-arabinofuranosa. Většina xylosových jednotek řetězce není substituována, některé jsou substituovány  $\alpha$ -L-arabinofuranosou vázanou vazbami (1 $\rightarrow$ 3), méně často vazbami (1 $\rightarrow$ 2). Xylosa bývá



substituována také dvěmi molekulami arabinofuranosy (na C-2 a C-3), která tvoří i krátké postranní řetězce spojené prostřednictvím vazeb (1 → 2), (1 → 3) nebo (1 → 5).

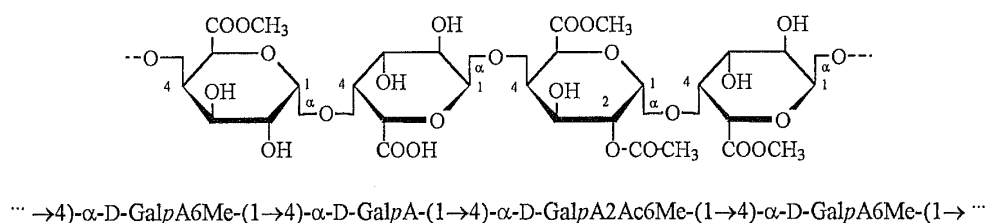
S ohledem na primární strukturu se tyto heteroxylany nazývají arabinoxylany a často dosud také starším názvem pentosany. [6]

## 2.3 Pektiny

Pektiny jsou skupinou značně polydisperzních polysacharidů o proměnném složení. Nacházejí se v pletivech vyšších rostlin jako součást stěn primárních buněk a mezibuněčných prostor. Vznikají a ukládají se hlavně v raných stádiích růstu, kdy se zvětšuje plocha buněčných stěn. Přítomnost pektinů a jejich změny během růstu, zrání, skladování a zpracování mají značný vliv zejména na texturu ovoce a zeleniny. [6]

### 2.3.1 Struktura pektinů

Základní struktura pektinů je tvořena lineárním řetězcem 25-100 jednotek D-galakturonové kyseliny spojených vazbami  $\alpha$ -(1 → 4), která je také nazývána polygalakturonová kyselina. Jednotky galakturonové kyseliny jsou do různého stupně (průměrně ze 70 %) esterifikovány methanolem, některé  $\alpha$ -D-galaktopyranuronáty nebo methyl-( $\alpha$ -D-galaktopyranuronáty) jsou acetylovány v poloze C-2 nebo C-3 (obr. 2). [6]



Obr. 2. Základní struktura pektinů. [6]

### 2.3.2 Výskyt pektinů

Pektiny se nacházejí prakticky ve všech druzích ovoce a zeleniny. Jejich obsah však není vysoký, v ovocné dužině kolísá okolo 1 %. Více pektinu se nachází např. v jablkách, slívách, rybízu, angreštu a borůvkách. Nejvíce pektinů je obsaženo v zelenině například v rajčatech. [6]

### 2.3.3 Fyziologie a výživa

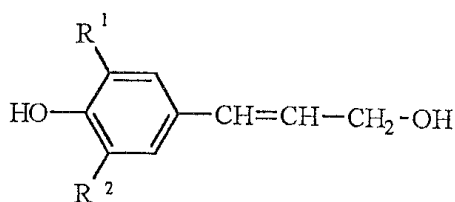
Pektin patří mezi polysacharidy tvořící vlákninu potravy. Ovlivňuje metabolismus glukosy a snižuje množství cholesterolu v krvi. Účinnější je pektin s vyšším obsahem methoxylových skupin. [6]

## 2.4 Lignin

Lignin je jednou z hlavních složek dřevní hmoty, kde tvoří asi 25 % biomasy. Podobné složení mají také skořápky ořechů. V menším množství je lignin součástí vlákniny ovoce, zelenin a obilovin. Stěny primárních buněk lignin prakticky neobsahují. Vysoký obsah je ve stěnách lignifikovaných sekundárních buněk jako jsou aleuronové a subaleuronové buňky obilovin (otruby), které obsahují kolem 8 % ligninu. [6]

### 2.4.1 Struktura ligninu

Lignin je kopolymerem fenylypropanových jednotek odvozených od koniferylalkoholu, *p*-kumarylalkoholu a sinapylalkoholu. Tyto fenylypropanové jednotky jsou nepravidelně vázány do trojrozměrných struktur etherovými vazbami (C-O-C) nebo vazbami mezi dvěma atomy uhlíku (C-C). [6]

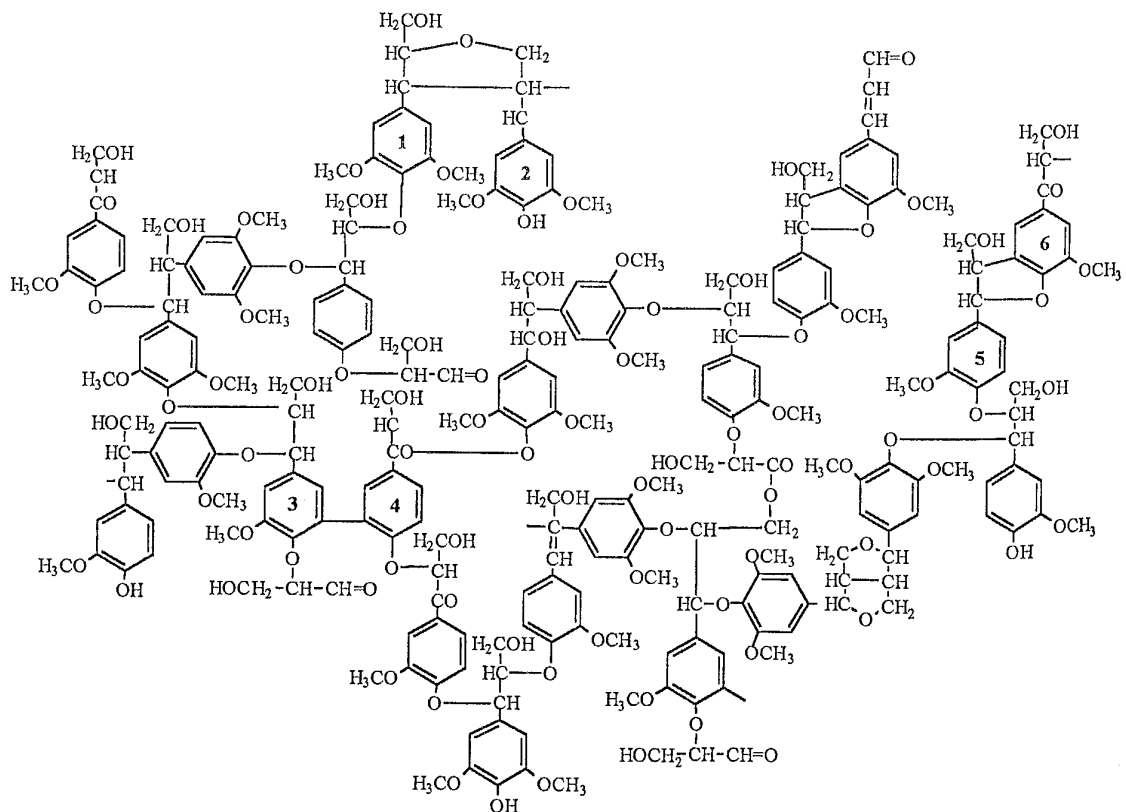


Obr. 3. Fenylypropanové stavební jednotky ligninu. [6]

*p*-kumarylalkohol,  $R^1 = R^2 = H$

koniferylalkohol,  $R^1 = OCH_3$ ,  $R^2 = H$

sinapylalkohol,  $R^1 = R^2 = OCH_3$



Obr. 4. Základní struktura ligninu. [6]

## 2.5 Rostlinné gummy a slizy

Exudáty rostlin, nazývané rostlinné gummy nebo také klovatiny, jsou zpravidla lepkavé šťávy vytékající samovolně z pletiv v důsledku působení stresových faktorů (především při napadení mikroorganismy) nebo při poranění. Jako rostlinné slizy se označují slizké sekundární metabolity vyskytující se v různých částech (plodech, semenech) některých rostlin.

Mezi rostlinné gummy se často řadí také neškrobové zásobní polysacharidy některých semen a hlíz, např. guarová, lokustová a konjaková guma. [6]

### 3 FYZIOLOGICKÉ ÚČINKY VLÁKNINY

Fyziologické účinky vlákniny mají vliv na metabolismus celého těla. Některé se projevují v určité části trávicího ústrojí, zejména pak v tlustém a tenkém střevě. V ústech vyžaduje strava s větším obsahem vlákniny vydatnější a delší žvýkání. Tráveninou s větším obsahem vlákniny se žaludek více zaplní, což rovněž přispívá k častějšímu pocitu nasycení při poměrně malém energetickém příjmu. [13]

#### 3.1 Pozitivní účinky vlákniny

Zdravotní účinky se odvíjí od fyziologického účinku vlákniny. Přibližně od 60. let minulého století se vláknině přisuzuje značný nutriční význam, často potvrzovaný výsledky epidemiologických studií, experimentů na zvířatech i klinických zkoušek a interpretovaný zejména jako prevence některých nádorových onemocnění a srdečně-cévních chorob, cukrovky II. typu, divertikulosy (vydutí) tlustého střeva a chronické zácpy. Její nezpochybnitelný význam spočívá také v tom, že je součástí prevence vzniku, resp. odstraňování nadváhy a obezity. Jedním z příznivých efektů působení vlákniny je její vysoká schopnost vázat vodu, dále rychlejším průchodem tráveniny a snížením vstřebávání tuků a jednoduchých cukrů se snižuje příjem energie potravou, k čemuž přispívá i správné vyprazdňování. [1, 14]

Další civilizační chorobou, která postihuje více ženy, je aterosklerosa. Bylo zjištěno, že vysoký příjem vlákniny, zvláště obilné, může zpomalit rozvoj aterosklerosy v koronárních cévách. U žen, které konzumovali více než 3 g vlákniny nebo více než 6 porcí celozrnných potravin týdně po dobu tří let, došlo ke zpomalení aterosklerosy v porovnání s ženami s nízkým příjmem vlákniny. [15, 16]

Zpomalení vstřebávání tuků a sacharidů vede ke snižování hladiny tuků a cholesterolu v krvi, u sacharidů pak k pomalejšímu a mírnějšímu vzestupu cukru v krvi, což je vlastnost důležitá zvláště pro diabetiky. [14]

Příjem vlákniny také zpomaluje a snižuje riziko z příjmu kontaminované potravy. Na pokusech se zvířaty bylo např. prokázáno, že pšeničné otruby mohou vázat aflatoxin B<sub>1</sub> (kancerogenní mykotoxin). Vláknina obilovin může díky své sorpční a iontovýměnné kapacitě ovlivňovat koncentraci některých mutagenních látek a toxických kovů přijatých potravou. [14]

Seznam pozitivních účinků vlákniny není zdaleka vyčerpán. Je jen málo onemocnění, kdy podávání vlákniny (alespoň v malých dávkách) je zakázáno. Rozpustná vláknina bývá přidávána i při infúzní výživě, či výživě sondou, kdy je podávána tekutá strava, poněvadž bylo zjištěno, že pomáhá udržovat střeva v činnosti. Za neúčinnější se považuje pšeničná vláknina. [14, 17]

### 3.2 Prebiotické účinky vlákniny

Mechanismus působení vlákniny byl dlouho vysvětlován pouze z mechanického hlediska, tedy z adsorpčními vlastnostmi, bobtnavostí, kartáčovým čistícím efektem, urychlováním pasáže tráveniny trávicím ústrojím. V posledním desetiletí se názory na biologickou aktivitu a také na chemické složení a na zdroje vlákniny mění. Byly objeveny nové funkce vlákniny, zejména její interakce s mikroflórou tlustého střeva. Na základě velké podobnosti v biologické aktivitě se k ní přiřazují nové typy primárních (potravních) anebo syntetických cukerných látek, které mají zpravidla oligosacharidovou povahu. [1]

Přehled biologické aktivity vlákniny:

- Vláknina poskytuje živiny a energii mikrobům tlustého střeva,
- pomáhá udržet druhovou pestrost střevních bakterií a posiluje jejich ochranné účinky na zdraví,
- pomáhá potlačit množení a účinky patogenních mikrobů,
- pomáhá udržet vodní a elektrolytickou rovnováhu v trávicím ústrojí,
- podporuje růst sliznice na vnitřním povrchu střeva a její funkce,
- pomáhá regulovat, popř. stimulovat imunologickou aktivitu střeva,
- je zdrojem antioxidantů, které udržují oxidoredukční rovnováhu v prostředí a chrání stěnu před oxidačním poškozením.

V těchto souvislostech se užívají některé novější pojmy jako prebiotika (např. frukto- a jiné oligosacharidy). [1]

### 3.3 Účinek vlákniny na tenké střevo

V tenkém střevě zvětšuje vláknina obsah potravy a tím způsobuje zrychlení pasáže obsahu tenkého střeva a současně snižuje absorpci živin. Zhoršená dostupnost a rozpustnost živin v potravě vlivem nestravitelné vlákniny snižuje aktivitu pankreatických a střevních fermentů a tím využitelnost živin obsažených v potravě. Dále vláknina tlumí absorpci živin. Současné zrychlení pasáže snižuje jak postprandiální glykémii tak energetickou využitelnost potravy. Vláknina, mechanismem vazby žlučových kyselin, přerušuje jejich enterohepatální cyklus a vede k mírnému poklesu cholesterolemie a snížení absorpce tuků z potravy. [18]

### 3.4 Účinek vlákniny na tlusté střevo

Po dosažení tlustého střeva vláknina podléhá fermentaci bakteriální flórou za vzniku krátkých mastných kyselin jako je kyselina octová, propionová a máselná a za tvorby CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> a metanu. Bakteriálním kvašením tak může být metabolizováno až 75 % vlákniny, která prochází tlustým střevem. Z vlákniny vzniká kvašením v tlustém střevě ze 62 % kyselina octová, z 25 % kyselina propionová a z 16 % kyselina máselná. Krátké mastné kyseliny, které vznikají fermentací vlákniny v tlustém střevě, představují důležitý zdroj energie pro buňky kolonu (části tlustého střeva). Takto vzniklé krátké mastné kyseliny mohou v optimálním případě pokrýt až 15-20 % energetické potřeby člověka. Energetická potřeba kolonocytu je hrazena z 80 % kyselinou máselnou, zbytek propionátem a malá část energetické potřeby kolonocytu ostatními energetickými substráty (acetát, ketolátky atd.).

Vláknina je v tomto případě významnou složkou pro udržení správné funkce a obnovy kolonocytů střevní sliznice. Kyselina máselná z vlákniny hraje důležitou roli v prevenci poškození střevní sliznice například zánětem, metaplasii až rozvojem karcinomu tlustého střeva. Hrubá vláknina navíc snižuje obsah sekundárních žlučových kyselin v tlustém střevě, které mohou zvyšovat riziko kolorektálního karcinomu. Tímto mechanismem má hrubá vláknina preventivní účinek proti vzniku střevních metaplasii a nádorů tlustého střeva. Nedostatek dietní vlákniny v potravě má za následek nejen zvýšený výskyt kolorektálního karcinomu, ale také obstipaci a divertikulosu tlustého střeva. [18, 19]

Význam vlákniny na vznik rakoviny tlustého střeva je stále ve stádiu vědeckého výzkumu. Na jedné straně je vláknina uváděna jako faktor, který při zvýšeném příjmu v potravě o 13 g/den snižuje výskyt kolorektálního karcinomu až o 31 %. Na druhé straně nebylo jednoznačně potvrzeno, že vláknina riziko rakoviny tlustého střeva snižuje. [18, 20]

### **3.5 Vliv vlákniny na metabolismus cholesterolu**

Největší účinek na snížení plasmatického cholesterolu má rozpustná vláknina (pektin, guarová guma). Účinek je vysvětlován „vychytáváním“ žlučových kyselin a jejich vylučováním stolicí. Tím dochází ke zvýšené tvorbě žlučových kyselin z cholesterolu v játrech a k poklesu celkových zásob cholesterolu v organismu. Účinek vlákniny na snížení cholesterolu je velmi proměnlivý podle kvality a typu vlákniny. „Vychytávání“ žlučových kyselin vlákninou nemusí být jediným mechanismem, který snižuje hladiny plasmatického cholesterolu. Kyselina propionová vznikající fermentací vlákniny v tlustém střevě má inhibiční účinek na jaterní HMG-CoA-reduktasu, která je klíčovým enzymem v syntéze cholesterolu. [18]

Vláknina se svými účinky podílí na snížení výskytu civilizačních chorob, kde vedle rakoviny střev, poskytuje ochranu před onemocněním srdce, cév či mozku tím, že na sebe váže jednak část cholesterolu, který odchází stolicí, jednak také žlučové kyseliny, které jsou následně tvořeny z cholesterolu, jehož hladina v krevním séru klesá. Při zařazení vlákniny do diety bylo zjištěno, že na každých 10 g vlákniny zkonsumovaných za den připadalo snížení rizika kardiovaskulárních nemocí o 14 % a snížení rizika koronární smrti o celých 27 %. Dále bylo zjištěno, že každodenní konzumace minimálně 2,5 g celých zrn je spojena se snížením rizika kardiovaskulárních příhod až o 21 % v porovnání se spotřebou pouhých 0,2 g denně. [21, 22, 23, 24]

Konzumací bezmasé diety s převažujícím obsahem ovoce, zeleniny a různých oříšků a semen, došlo po 14 dnech ke snížení cholesterolu až o 13 %, což bylo více než při léčbě farmaceutickými přípravky na snížení cholesterolu. [25]

### **3.6 Vliv vlákniny na hladinu glukosy v krvi**

Rozpustná vláknina může zpomalovat trávení a absorpci sacharidů a snižovat tak vzestup hladiny glukosy v krvi po požití potravy bohaté na sacharidy. Dochází k menším

výkyvům v hladině krevní glukosy a menšímu množství uvolněného inzulínu, což je významné zvláště pro diabetiky. [12, 19]

### **3.7 Negativní účinky vlákniny**

Vláknina se kromě svých pozitivních účinků může projevovat negativně tím, že způsobuje rychlejší průchod tráveniny zažívacím ústrojím, což vede ke snížení její využitelnosti. Dále cereální vlákninu provází kyselina fytová a její soli fytáty, jež vytvářejí s některými prvky (Ca, Mg, K, Fe, Zn) nerozpustné komplexy z nichž jsou málo využitelné. Rovněž bývá upozorňováno na možnost interakce s některými léky. Snížení vstřebávání léčiv nebylo zatím dostatečně prokázáno u žádné vlákniny.

Celulosa může negativně ovlivnit bilanci vitaminů a minerálů. Vyšší příjem vlákniny může způsobit nadýmání, bolesti břicha a průjemy. Za rizikový příjem je považován příjem vlákniny vyšší než 60 g za den. [1, 14]



## 4 VÝŽIVOVÁ DOPORUČENÍ

Stanovit jednoznačné doporučení pro denní příjem vlákniny je problematické, protože se nejedná o jedinou látku, ale komplex různých složek, které plní různé funkce a většinou nejsou vzájemně zastupitelné. Doporučenou dávku je proto obtížné jednoznačně vyčíslit, je nutné znát nutriční hodnotu potravin, které člověk přijímá. Proto se často uvádějí orientační hodnoty, a to i z důvodu použití nejednotné metody pro stanovení obsahu vlákniny v potravinách. Pro státy Evropské unie bylo v rámci projektu Dietary fibre intakes in Europe stanoveno doporučení v rozpětí 21-25,3 g vlákniny na den. [1]

V České republice existuje doporučená dávka 25 až 30 g vlákniny na den, tato hodnota byla stanovena Společností pro výživu v roce 2005. Současná konzumace vlákniny u nás se však odhaduje na pouhých 10 až 15 g na den. Doporučený poměr rozpustné a nerozpustné vlákniny je 3 : 1. [1]

V roce 2005 byl proveden průzkum příjmu vlákniny na vzorku české populace. Spotřeba vlákniny byla sledována u 13 045 osob (z toho 612 mužů a 12 433 žen) kteří se rozhodli redukovat svou hmotnost. Průměrná spotřeba příjmu vlákniny denně činila 11,7 g bez rozdílu pohlaví. Rozdělení respondentů podle příjmu vlákniny je uvedeno v tabulce 2. Výsledkem tohoto průzkumu bylo zjištění, že 98 % populace v ČR přijímá denně méně než 25 g vlákniny. [26]

*Tab. 2. Rozdělení respondentů podle příjmu vlákniny. [26]*

<b>Množství konzumované vlákniny za den</b>	<b>% účastníků průzkumu</b>
Méně než 10 g	42,93 %
10 – 15 g	35,06 %
15 – 20 g	15,35 %
20 – 25 g	4,68 %
25 – 30 g	1,38 %
Více než 30 g	0,6 %

## 5 ZDROJE VLÁKNINY

Vláknina se vyskytuje v naprosté většině poživatin a krmiv rostlinného původu. Pro člověka jsou významnými zdroji hlavně obiloviny, zelenina, ovoce, brambory a výrobky z nich (mouka, kroupy, vločky, chléb, pečivo, ovocné a zeleninové výrobky). Důležitým zdrojem jsou i luštěniny (hrách, sója, čočka), ořechy a houby. Dále je vláknina obsažena například v mořských řasách a dalších potravinách. Obsah vlákniny ve vybraných potravinách je uveden v tabulce 3. Vláknina z různých zdrojů však nemá stejné složení a obsahuje různé množství rozpustné a nerozpustné vlákniny. Obilné zrna obsahuje vlákninu především v povrchových vrstvách, proto tmavá mouka, málo vymletá mouka nebo dokonce celozrnná mouka obsahuje větší množství vlákniny než vysoce vymílaná mouka bílá. [1, 13]

Významným zdrojem potravinové vlákniny jsou celozrnné produkty, zejména vnější vrstvy obilného zrna, bohaté na neškrobové polysacharidy (arabinoxylany, celulóza). V pšeničných otrubách, které jsou hlavním zdrojem vlákniny, tvoří její podíl 45-50 % v sušině. Za hlavní vlákninovou složku pšeničných otrub jsou považovány glukuronoarabinoxylany. Byla vypracována metodika na jejich izolování ze záměrem přidávat je do světlých mouk za účelem obohacení běžných pekařských výrobků vlákninou. [14]

Tab. 3. Obsah vlákniny ve 100 g vybraných potravin. [1]

<b>Potravina</b>	<b>Obsah vlákniny(g)</b>	<b>Potravina</b>	<b>Obsah vlákniny(g)</b>
Pšeničná mouka celozrnná	9,1	Zelí hlávkové bílé	2,7
Vločky ovesné	7,0	Chléb bílý - veka	2,7
Rybíz černý	5,6	Nektarinky	2,2
Hrách	5,2	Špenát vařený	2,1
Maliny	5,2	Paprika zelená	1,9
Chléb tmavý	5,1	Petržel	1,8
Rybíz červený	4,7	Jablka	1,8
Datle čerstvé	3,6	Pomeranče	1,8
Pšeničná mouka hladká	3,2	Citrony	1,8
Banány	3,1	Grapefruit	1,6
Kapusta	3,1	Brambory pozdní	1,6
Rohlík obyčejný	3,1	Rajčata	1,5
Fazole	3,0	Broskve	1,4
Mrkev	3,0	Okurky	1,0
Brokolice	2,8	Rýže vařená	0,8

## 6 ŘASY

Používání řas pro přímou spotřebu je velmi rozšířené, zvláště v Japonsku, jižní a východní Asii. Některé složky získané z řas (agar, alginát, karagenan) jsou využívány ve farmaceutickém, potravinářském průmyslu a v kosmetice. Přímá spotřeba řas ve východních zemích je vysoká – průměrný příjem pro japonské obyvatelstvo je 3,3 g suché řasy denně. V západních zemích je spotřeba nižší, protože řasy nejsou součástí obvyklé stravy. [27]

Řasy obsahují velké množství vitaminů, minerálních látek, bílkovin, polysacharidů a jsou také dobrým zdrojem vlákniny, a to hlavně rozpustné, která je považována za ochranný prostředek proti zácpě, rakovině tlustého střeva, kardiovaskulárnímu onemocnění a obezity. [28, 29, 30]

V České republice lze produkty z řas zakoupit v obchodech se zdravou výživou a biopotravinami, případně v internetových obchodech. [31]

### 6.1 Rozdělení řas

Taxonomie řas není ustálena, z morfologického hlediska jsou řasy součástí:

1. Říše: rostlin (*Plantae*), které jsou rozděleny na:

- Ruduchy (*Rhodophyta*),
- obrněnky (*Dinophyta*),
- skrytěnky (*Cryptophyta*),
- chloromonády (*Chloromonadophyta*),
- hnědé řasy (*Chromophyta*),
- krásnoočka (*Euglenophyta*),
- zelené řasy (*Chlorophyta*).

2. Říše: bakterie (*Bacteria*):

- Sinice (*Cyanobacteria, Cyanophyta*) – spirulina. [32]

Velmi často je používáno rozdělení do skupin podle zbarvení a podle výskytu. Podle zbarvení se řasy dělí na:

- Hnědé řasy (*Phaeophyceae*),
- červené řasy (*Rhodophyceae*),
- zelené řasy (*Chlorophyceae*),
- modrozelené řasy (*Cyanophyceae*).

Podle výskytu se řasy dělí na mořské a sladkovodní řasy. [33]

V práci je dále uváděna charakteristika řas, které jsou významné z potravinářského hlediska.

## 6.2 Mořské hnědé řasy (*Phaeophyceae*)

Hnědé řasy se používají jak pro přímou spotřebu, tak také jako surovina pro výrobu alginátů. Rostou ve studených vodách, nejlépe se jim daří ve vodách při teplotě 20°C. Řasy, které rostou v teplejších vodách jsou méně vhodné pro výrobu alginátů a málokdy se používají pro přímou spotřebu. Hnědé řasy jsou známy vysokým obsahem vlákniny. [33]

### 6.2.1 Arame (*Eisenia bicyclis*)

*Eisenia bicyclis* je hnědá mořská řasa, která je známa pod komerčním názvem Arame. Tento druh řas roste hojně na pobřeží japonského ostrova Izu. Listy mají tvar vějíře, který je asi 30 cm dlouhý a 4 cm široký. Sbírá se ručně od května do srpna. Potom se sedm hodin vaří a suší na slunci. Aby se daly lépe použít v kuchyni, krájí se na tenké nudličky, což připomíná řasu Hiziki. Arame má trochu nasládlou chuť, což způsobuje vysoký obsah manitu, přírodního cukru, který se vyskytuje ve většině hnědých řas. Obsahuje velké množství jódu, vápníku a vlákniny. [34]

### 6.2.2 Hiziki (*Hizikia fusiformes*)

*Hizikia fusiformes*, známa jako Hiziki (obr. 5), jsou provázkovité řasy rostoucí na ponořených skalách pacifického pobřeží Japonska. Pro svůj růst potřebují slunce, proto se obvykle nacházejí jen 1-2 metry pod hladinou. Sklízí se ručně a to na jaře. Na rozdíl od jiných řas, které jsou sušeny pouze na slunci, jsou Hiziki sušeny teplým vzduchem. Jsou

dobrým zdrojem minerálních látek, zejména železa, mědi a manganu, jejichž obsah je vyšší než v dalších hnědých řasách. Mají nízký obsah tuku (1,5 %), ale z tohoto množství je 20-25 % tvořeno eikosapentaenovou kyselinou. [33, 35]



Obr. 5. Hiziki. [36]

### 6.2.3 Kombu (*Laminaria japonica*)

*Laminaria japonica*, jejíž komerční název je Kombu, je hlubokomořská řasa tvořená tvrdými listy o délce 5-10 metrů, které mají po usušení tmavě zelenou barvu. Kombu obsahuje asi 10 % bílkovin, 2 % tuku a velké množství minerálních látek a vitaminů, jejichž množství ale nedosahuje hodnot z červených řas. Kombu obsahuje také jód, který se v menším množství vyskytuje v červených řasách. Používá se jako koření při přípravě polévek, omáček či rýže. [33, 37]

### 6.2.4 Wakame (*Undaria pinnatifida*)

*Undaria pinnatifida*, s komerčním názvem Wakame (obr. 6), je dlouhá řasa rostoucí v okolí japonského ostrova Hokkaidó, kde se sklízí od února do června pomocí dlouhých háků. Na pobřeží jsou namáčeny do vařící vody, pak do čerstvé studené vody a nakonec se suší na šňůrách. Wakame má vysoký obsah vlákniny, vyšší než Kombu, dále obsahuje velké množství vitaminů skupiny B, zvláště niacin, a ze stopových prvků obsahuje významné množství manganu, mědi, kobaltu, železa, niklu a zinku. [33, 38]



Obr. 6. Wakame. [33]

### 6.3 Mořské červené řasy (*Rhodophyceae*)

Červené mořské řasy dosahují menších rozměrů na rozdíl od hnědých řas mohou růst jak ve studených vodách Nového Skotska (v Kanadě) a jižního Chile, tak i v klidných vodách na pobřeží Maroka, Portugalska a v tropických vodách v Indonésii a Filipínách. Červené řasy jsou využívány hlavně pro přímou spotřebu, ale také jako surovina pro výrobu agarů a karagenanů. [33]

#### 6.3.1 Dulse (*Palmaria palmata*)

*Palmaria palmata*, známa jako Dulse (obr. 7), roste na skalnatých pobřežích v turbulentních vodách kolem spodní hranice přílivu. Řasy jsou malé, 15 až 30 cm dlouhé a mají tenké, měkké listy (vějíře). Sklízí se od května do října ručně při odlivu, pak se suší na slunci. Dulse má vysoký obsah železa a vápníku. [33, 39]



Obr. 7. Dulse. [40]

### 6.3.2 Nori (*Porphyra tenera*)

*Porphyra tenera*, jejíž komerční název je Nori, patří k nejrozšířenějším mořským řasám. Velmi kvalitní Nori pochází z Japonska, kde má výborné podmínky k růstu. Nori roste na sítích v pobřežních vodách, kde se za odlivu sbírá a pak se suší na slunci na papírových listech. Je citlivá na kvalitu vody, takže roste jen v čistých vodách. Obsahuje řadu vitaminů, minerálů, bílkovin (30-50 %). Charakteristická chuť Nori je způsobena přítomností velkého množství tří aminokyselin – alaninu, kyseliny glutamové a glycinu. Nori je nejvíce využívána pro přípravu japonského pokrmu suši, sestávajícího z malého množství dušené rýže a syrové ryby. V Číně se většinou používá jako koření při přípravě polévek. V Korejské republice se Nori používá pro přípravu smaženého pokrmu *hoshi-nori*. [33, 37]

## 6.4 Sladkovodní řasy

Sladkovodní řasy dosahují mikroskopických rozměrů a jsou součástí planktonu. Rostou v sladkých, ale některé druhy také v poloslaných rybnících či jezerech v mírném až teplém klimatu po celém světě. *Chlorella* a *Spirulina* jsou nejčastěji pěstovanými v různých zařízeních, hlavními producenty jsou biotechnologické společnosti v Japonsku, na Tchaj-wanu, v Izraeli, v USA, v Číně, v Indonésii a v menším množství i v dalších zemích. [41, 42]

### 6.4.1 *Chlorella* (*Chlorella pyrenoidosa*)

*Chlorella pyrenoidosa*, známá jako *Chlorella* (obr. 8) patří mezi zelené řasy. Sušina *Chlorelly* obsahuje 50-60 % bílkovin (obsahuje všechny esenciální aminokyseliny). Sacharidy (nejčastěji škrob) tvoří asi 15 % suché hmoty řas a lipidy tvoří rovněž 15 %. *Chlorella* obsahuje 6-8 % vlákniny. Dále má vysoký obsah vitaminů, minerálních látek a chlorofylu. *Chlorella* obsahuje „chlorelový růstový faktor“ (CGF), což je komplex nukleotidů a peptidů obsahující především deriváty nukleových kyselin, který vzniká při intenzivní fotosyntéze a umožňuje rychlý růst řasy. *Chlorella* se pěstuje od roku 1960 na výzkumném pracovišti Mikrobiologického ústavu AV ČR u Třeboně. [41, 43, 44]





Obr. 8. *Chlorella*. [45]

#### 6.4.2 Spirulina (*Spirulina pacifica*)

*Spirulina pacifica*, jejíž komerční název je Spirulina, ačkoliv taxonomicky patří mezi sinice, často bývá označována jako modrozelená řasa. Spirulina obsahuje 60-70 % bílkovin, tvořených vysokým podílem esenciálních aminokyselin, dále obsahuje nukleové kyseliny, chlorofyl a phycocyanin (modrý pigment). Spirulina obsahuje málo tuku, z tohoto množství je převážná část tvořena kyselinou gama-linolenovou, linolovou a kyselinou arachidonovou. Dále obsahuje velké množství vitamínu (zvláště vitamin B<sub>12</sub>) a železo. [46, 47, 48]

### 6.5 Výživová hodnota řas

Složení jednotlivých řas je různé na základě faktorů vnějšího prostředí jako jsou teplota vody, slanost, množství světla a živin. [49]

Řasy jsou významným zdrojem minerálních látek, které mohou zaujímat až 36 % jejich hmotnosti v sušené formě. Z minerálních makroprvků obsahují řasy sodík, vápník, hořčík, draslík, chlór, síru a fosfor a dále stopové prvky jako jód, železo, zinek, měď, selen, molybden, fluór, mangan, bór, nikl a kobalt. Řasy jsou také dobrým zdrojem vitamínů, zejména A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>12</sub> a C. [29, 50]

Obsah bílkovin v řasách se liší podle jednotlivých druhů. Spirulina je známá velmi vysokým obsahem bílkovin jež tvoří až 70 % hmotnosti sušiny. Sladkovodní *Chlorella* má vysoký obsah až 50 % bílkovin. Některé druhy červených řas obsahují 30-40 % bílkovin. Zelené mořské řasy, které nejsou moc pěstované a využívány, obsahují 20 % bílkovin. Hnědé řasy obsahují nejméně bílkovin ze všech řas, asi 5 až 11 % hmotnosti sušiny. [39, 50]

Řasy obsahují velmi malé množství tuku, v rozsahu 1 až 5 % v sušině, které je tvořeno u červených řas vysokým podílem nenasycených mastných kyselin. [27, 50]

Řasy obsahují velké množství vlákniny v rozsahu 32 až 50 % v sušině. Rozpustný vlákninový podíl odpovídá 67-87 % z celkové vlákniny v hnědých řasách a 51-56 % v zelených řasách. [50]

## 6.6 Polysacharidy mořských řas

Nejvýznamnějšími zástupci této skupiny potravinářsky důležitých polysacharidů jsou:

- Agary,
- karagenany a furcellaran,
- algináty (soli alginové kyseliny). [6]

### 6.6.1 Agary

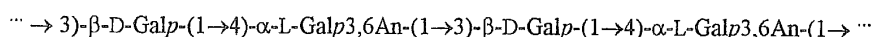
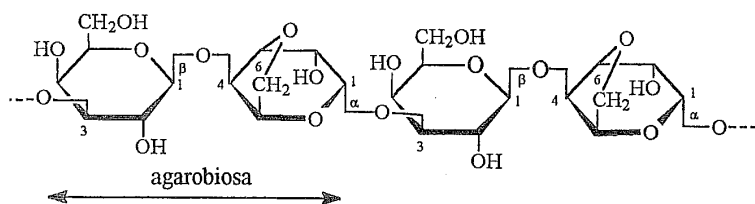
Agary tvoří intracelulární gelovou matici řady druhů červených mořských řas (*Rhodophyceae*), které zastávají v řasách obdobnou funkci jako celulóza u vyšších rostlin.

Řasy, které jsou zdrojem agaru (agarofyty) pocházejí nejčastěji z čeledi *Gelidaceae*, *Gracilariaceae* a *Pterocladaceae*, které rostou na pobřeží Portugalska, jižní Afriky, Indie, Japonska, Mexika, Chile a Nového Zélandu. Agarofyty jsou obvykle divoce rostoucí řasy. Pouze v Chile se pěstují v mořských farmách.

Agary se z řas získávají nejčastěji extrakcí horkou vodou (o teplotě vyšší než je bod tání agarového gelu) v neutrálním, kyselém nebo alkalickém prostředí. V alkalickém prostředí současně dochází k parciální hydrolyze sulfátových skupin a vznikají agary s modifikovanými vlastnostmi. Z extraktů se vymražením získávají gely, které se suší. [6]

#### STRUKTURA AGARU

Agary jsou lineární polysacharidy, jejichž stavebními jednotkami jsou  $\beta$ -D-galaktopyranosa a 3,6-anhydro- $\alpha$ -L-galaktopyranosa střídavě vázané glykosidovými vazbami (1 $\rightarrow$ 3) a (1 $\rightarrow$ 4). Základní neutrální polysacharid je často dosud nazýván agarosa. Jeho stavební jednotkou je disacharid agarobiosa, 4-O- $\beta$ -D-galaktopyranosyl-3,6-anhydro- $\alpha$ -L-galaktopyranosa. [6]



Obr. 9. Agarosa. [6]

## VLASTNOSTI A POUŽITÍ AGARŮ

Agary se rozpouštějí v horké vodě při teplotě nad 85°C a vyšší. Ochlazením disperze vzniká gel již v koncentraci 0,04 %, běžně je používána koncentrace 0,5-2,0 %. Přechod solu v gel i naopak vykazuje hysterézi, teplota tání gelu (do 95°C) je vyšší než teplota, při níž se gel tvoří. Při stárnutí podléhají gely synerézi, což je vylučování kapalné fáze z gelu. Agary jsou málo kyselé polysacharidy a na rozdíl od karagenanů nevyžaduje tvorba gelu přítomnost neutralizujících kationtů.

Agary se díky vysokému bodu tání gelů používají především do pekařských výrobků, dále při výrobě džemů a želé, cukrářských, mléčných, masných, rybích a drůbežích výrobků. V Japonsku je agar používán také jako samostatná potravinu pro výrobu různých ochucených gelů nebo jedlých obalů. [6]

### 6.6.2 Karagenany

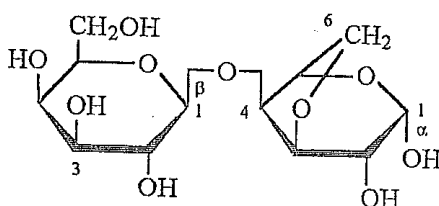
Karagenany jsou extrakty z červených mořských řas (*Rhodophyceae*), zejména řas rodu *Euchema*, *Chondrus* a *Gigartina*. Liší se strukturou, která do značné míry souvisí s jejich původem. Řasy rodu *Euchema* tvoří vláknité keře výšky asi 0,5 m, které rostou na korálových útesech podél Filipín, Indonésie a v dalších tropických oblastech Tichého oceánu. Řasy *Chondrus crispus* jsou tmavě červené malé keříky rostoucí do výšky asi 0,1 m podél pobřeží severního Atlantiku, zejména Kanady, u britských ostrovů a Francie. Řasy rodu *Gigartina* dorůstají výšky až 5 m. Rostou v chladných pobřežních vodách Jižní Ameriky, Chile.

Karagenany se z řas extrahují nejčastěji horkou vodou v alkalickém prostředí jako sodné soli (extrakce roztoky Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaOH). Okyselením (HCl) se získávají příslušné kyselé

karagenany. Finální produkty se získávají sušením nebo srážením rozpouštědly (např. 2-propanolem). [6]

### STRUKTURA KARAGENANŮ

Karagenany jsou lineární polysacharidy podobné struktury jako agary, ale na rozdíl od nich obsahují strukturní jednotku pouze D-galaktopyranosu (L-galaktosu neobsahují). Základem struktury je opakující se sekvence  $\beta$ -D-galaktopyranosu a 3,6-anhydro- $\alpha$ -D-galaktopyranosu, tedy disacharid, který se nazývá karabiosa. [6]



Obr. 10. Karabiosa. [6]

### VLASTNOSTI A POUŽITÍ KARAGENANŮ

Karagenany jsou hydrofilní anionaktivní koloidy. Rozpustnost ve vodě závisí na druhu karagananu, přítomných iontech, teplotě a pH prostředí. Jejich významnou vlastností je tvorba gelů. Ty vznikají obdobně jako agarové gely ochlazením již v koncentraci 0,5 % dispersí. Tvorba pevných, ale křehkých gelů vyžaduje přítomnost neutralizujících iontů (např. draselných či amonných iontů). Důležitou vlastností karagenanů je schopnost tvořit komplexy s mléčnými bílkovinami (kaseiny).

Karagenany se používají jako zahušťovadla, gelotvorné látky, stabilizátory a emulgátory při výrobě desertů, mléčných nápojů, zmrzlin a při výrobě masových konzerv. Karagenany se používají také v dalších oborech, např. v kosmetice, pro stabilizaci průmyslových suspenzí a při výrobě barev. [6]

#### 6.6.3 Furcellaran

Furcellaran se získává hlavně z červených řas rodu *Furcellaria* (*F. lumbricalis*, *F. fastigiata*). Někdy bývá označován také jako dánský agar, protože se jeho zdroj vyskytuje především při pobřeží Dánska. Furcellaran je sulfátovaný polysacharid tvořený

jednotkami D-galaktosy (46-53 %), 3,6-anhydro-D-galaktosy (30-33 %) a jejich sulfáty (16-20 %).

Furcellaran je rozpustný v teplé vodě. Tvoří jemné, pružné, termoreverzibilní gely. Přídavek cukru ovlivňuje pozitivně pevnost gelu. Furcellaran tvoří velmi pevné gely v přítomnosti iontů  $K^+$  a  $NH_4^+$ .

Používá se při výrobě pudingu a mléčných dezertů. [6]

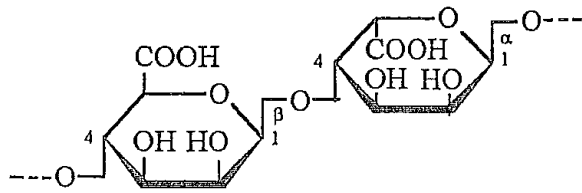
#### 6.6.4 Algin

Algin je název pro alginovou kyselinu a její soli algináty. Algin se nachází jako intercelulární matrice (jako gel obsahující ionty Na, Ca, Mg, Sr a Ba) v tzv. hnědých mořských řasách třídy *Phaeophyceae* rostoucích při pobřeží severního Atlantiku, zejména v USA, Norsku, Francii a Británii. Hlavními průmyslovými zdroji jsou řasy *Macrocystis pyrifera*, *Laminaria hyperborea* a řasy rodů *Ascophyllum* a *Sargassum*. Algin tvoří asi 40 % sušiny řas.

Algin se podobně jako agary a karagenany získává jako sodná sůl (alginát) extrakcí řas alkáliemi (NaOH,  $Na_2CO_3$ ). Z extraktů se sráží jako vápenatá sůl přidáním  $CaCl_2$  nebo okyselením HCl jako alginová kyselina. Vápenatá sůl se převádí na alginovou kyselinu a z té se získává finální komerční produkt (sodná sůl) neutralizací  $Na_2CO_3$ . [6]

#### STRUKTURA ALGINŮ

Algináty jsou nevětvené lineární kopolymery  $\beta$ -D-mannuronové kyseliny (M) a  $\alpha$ -L-guluronové kyseliny (G) spojené glykosidovými vazbami (1→4). V řetězci se střídají různě dlouhé úseky obsahující pouze molekuly M s úseky tvořenými výhradně molekulami G a se smíšenými úseky MG. Zastoupení a střídání obou složek je velice variabilní a závisí především na původu alginátu. Mannuronová kyselina se vyskytuje v koncentraci 22-90 %, guluronová kyselina 10-78 %. [6]



Obr. 11. Struktura úseku M-G alginové kyseliny. [6]

#### VLASTNOSTI A POUŽITÍ ALGINŮ

Algináty alkalických kovů, amonné soli, soli aminů a hořečnaté soli jsou rozpustné, vápenaté soli jsou nerozpustné. Rozpustnost je ovlivňována hodnotou pH, iontovou silou a druhem iontů. V kyselých roztocích se sráží alginová kyselina. Při pomalém okyselování se místo sraženiny tvoří gel.

Algináty se používají v koncentraci 0,25-0,5 % jako zahušťovadla, stabilizátory a emulgátory pro zlepšení konzistence např. pečiva, omáček, dresingů, zmrzlin, ovocných džusů a mnoha dalších potravin. [6]

## 7 STANOVENÍ VLÁKNINY

### 7.1 Vývoj metod stanovení vlákniny

První pokusy stanovit vlákninu se objevují již začátkem 19. století. Roku 1806 prováděl H. Einhof kyselou a zásaditou hydrolýzu. Na něho navázal v roce 1814 H. Davy, který vlákninu izoloval varem ve vodě a alkoholu. Roku 1832 se Sprengel snažil izolovat celulosu hydrolýzou v prostředí kyseliny, louhu a chlorové vody. V roce 1857 vyvinul Schulze metodu, ve které používal pro stanovení vlákniny oxidační hydrolýzu v prostředí kyseliny dusičné a chlorečnanu draselného. [51]

Metody stanovení vlákniny lze rozdělit na:

- Gravimetrické metody,
- chemické metody,
- enzymatické metody. [4]

#### 7.1.1 Gravimetrické metody

Nejstarší a nejběžnější užívanou metodou stanovení vlákniny v krmivu byla metoda navržená W. Hennebergem a F. Stohmannem (1860), která se masově rozšířila po celém světě a jejím produktem je tzv. hrubá vláknina. Autoři zvolili ohleduplnější způsob hydrolýzy založený na dvoustupňové hydrolýze v slabě kyselém a slabě zásaditém prostředí. Kyselina rozpouští část celulosy a zásada část ligninu, proto tato metoda neurčuje aktuální množství vlákniny v krmivu. Během 20. století byla často používanou metodou, později byla upravena. [4, 51, 52]

Roku 1931 se K. Scharrer a K. Kürschner vrátili k oxidační metodě (směs kyselin octové, dusičné a trichloroctové), která se jevila časově méně náročná a poskytovala u některých surovin podobné výsledky jako u metody podle W. Henneberga a F. Stohmanna (1860). Později byla tato metoda modifikována použitím směsi kyseliny octové a dusičné. Jelikož však u mnoha surovin poskytovala prokazatelně nižší výsledky proti klasickému stanovení, bylo od ní upuštěno. [51]

Roku 1963 P. J. Van Soest s kolektivem zavedl pojmy neutrálnědetergentní vláknina (NDF), acidodetergentní vláknina (ADF), a acidodetergentní lignin (ADL), jejichž cílem

bylo oddělit obsah buněčných stěn od buněčného obsahu. Zároveň jednoduchým postupem rozdělit buněčné stěny na celulosu, hemicelulosu a lignin. NDF je zbytek buněčných stěn (celulosa, hemicelulosa a lignin) získaný po mírné hydrolýze za varu v pufovaném neutrálním roztoku a detergentu laurylsulfátu sodného. ADF je zbytek buněčných stěn (celulosa a lignin), který zůstane po hydrolýze v prostředí detergentu (cetyltrimethylomonium bromid v 1 M kyselině sírové). ADL je zbytek buněčných stěn, získaný hydrolýzou po stanovení ADF 72 % kyselinou sírovou za studena, čímž je ze vzorku odstraněna celulosa. [51, 53]

### 7.1.2 Chemické metody

Relativně komplikovanější a také dražší postup stanovení vlákniny v krmivu byl použit v roce 1968 K. Nehringem a v roce 1969 Southgatem, kteří dělili daný substrát pomocí chemických, enzymatických a fyzikálních metod na jednotlivé fáze o přibližně známém chemickém složení. Kombinací gravimetrických, chromatografických a jiných metod se jednotlivé fáze rozdělily na základní složky (např. strukturální monosacharidy, lignin). Pro náročnost analytického postupu se však tyto metody do běžné praxe nerozšířily. Southgatova metoda byla upravena pro lidskou výživu během roku 1970. [4, 51]

Theander a Aman vyvinuli v roce 1979 chemickou metodu za použití plynové chromatografie k měření rozpustné a nerozpustné vlákniny. Tato metoda prošla později úpravami. [4]

Roku 1982 Englyst publikoval postup prodlužující Southgatovu práci pro měření neškrobových polysacharidů používáním plynové chromatografie. Metoda zahrnovala kompletnější odstranění dostupného škrobu a umožnila stanovení různých monosacharidů přítomných ve vláknině potravinářských výrobků. Tato metoda byla příliš zdlouhavá, proto v roce 1987 Englyst a Hudson vyvinuli alternativní kolorimetrickou metodu pro měření jednotlivých sacharidů. [4]

### 7.1.3 Enzymatické metody

R. D. Williams a W. D. Olmsted již v roce 1935 začali jako první využívat enzymy. Pro odstranění škrobu a proteinu byl použit pankreatin, následovala kyselá hydrolýza a stanovení jednotlivých cukerných frakcí. V roce 1975 Hellendoor a kolektiv použili pepsin pro hydrolýzu proteinu a pankreatin pro následnou hydrolýzu škrobu.



Základním problémem enzymatických metod byla nízká selektivita používaných enzymů, které atakovaly i vlákninový komplex a snižovaly tak jeho návratnost. V současné době lze již vyrobit velmi čisté preparáty, které zajišťují vysokou selektivitu a díky tomu se stává použití enzymů velmi atraktivní.

V roce 1984 L. Prosky s kolektivem vyvinul enzymatickou metodu na stanovení tzv. celkové vlákniny potravy (TDF-Total Dietary Fiber). Tato metoda zahrnuje i vodorozpustnou složku vlákniny. Princip je založen na rozpuštění jednoduchých cukrů 78 % etylalkoholem a enzymatickém odstranění škrobu. [51]

Li a Cardovo uvedli v roce 1994 jednoduchou metodu (AOAC metoda 993.21) pro potraviny s malým množstvím škrobu. [4]

## **7.2 Stanovení vlákniny oxidační hydrolyzou**

Tato metoda patří do gravimetrických metod, kdy je vláknina stanovena jako zbytek po hydrolyze směsí kyseliny octové a dusičné za varu, po odečtení popela. [54]

## **7.3 Stanovení vlákniny podle Henneberg–Stohmanna**

Metoda podle Henneberg–Stohmanna je také gravimetrickou metodou, která na rozdíl od předchozí metody používá jiná hydrolyzační činidla. Vláknina je stanovena jako pevný zbytek po kyselé a alkalické hydrolyze kyselinou sírovou a roztokem hydroxidu sodného, po odečtení popela. [54]

## **7.4 Stanovení vlákniny enzymaticky**

Vláknina je stanovena jako zbytek po enzymatickém rozkladu tří enzymů po odečtení popela a dusíku. Použitím  $\alpha$ -amylasy a amyloglukosidasy je odstraněn škrob a působením proteasy jsou rozloženy bílkoviny. [55]

## **PRAKTICKÁ ČÁST**

## 8 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo ověřit metody stanovení vlákniny ve vzorcích z mořských a sladkovodních řas a vybrat nejvhodnější metodu pro tuto surovinu.

### 8.1 Použité materiály

Ke stanovení byly použity vzorky, které byly zakoupeny v prodejně se zdravou výživou. Označení vzorků, jejich komerční název, výrobce, země původu a obsah řasy udává tabulka 4.

Tab. 4. Seznam a označení použitých vzorků

Komerční název	Označení vzorku	Výrobce	Země původu	Řasa
<b>Mořské hnědé řasy</b>				
Arame	A	Country life s.r.o.	Japonsko	<i>Eisenia bicyclis</i>
Hiziki	H	Country life s.r.o.	Japonsko	<i>Hizikia fusiformes</i>
Kombu	K	Country life s.r.o.	Japonsko	<i>Laminaria japonica</i>
Wakame	W	Country life s.r.o.	Japonsko	<i>Undaria pinnatifida</i>
Wakame instant	WI	Country life s.r.o.	Japonsko	<i>Undaria pinnatifida</i>
<b>Mořské červené řasy</b>				
Dulse vločky	D	Lifefood CR, s.r.o.	USA	<i>Palmaria palmata</i>
Nori vločky	NV	Sunfood	Japonsko	<i>Porphyra tenera</i>
<b>Sladkovodní řasy</b>				
Chlorella Tabs	C	Chlorella centrum s.r.o.	Taiwan	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>
Spirulina Pacifica	S	Nutrex, Inc. USA	Hawai	<i>Spirulina pacifica</i>

## 8.2 Použité chemikálie a pomůcky

Všechny chemikálie použité ke stanovení byly v čistotě p.a. (Lachema, Chemapol, Lach-Ner). Stanovení bylo provedeno třemi metodami: oxidační hydrolýzou, metodou podle Henneberg–Stohmanna a enzymatickou metodou. Stanovení vlákniny ve vzorcích řas bylo provedeno v laboratoři analýzy potravin za použití k tomu určených pracovních pomůcek.

### 8.2.1 Seznam použitých chemikálií

#### STANOVENÍ VLÁKNINY OXIDAČNÍ HYDROLÝZOU

Na stanovení vlákniny oxidační hydrolýzou byly použity tyto chemikálie:

- 80 %  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ,
- 65 %  $\text{HNO}_3$ ,
- 10 %  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ,
- indikátor methylčerveně,
- $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ .

#### STANOVENÍ VLÁKNINY PODLE HENNEBERG-STOHMANNA

Ke stanovení vlákniny podle metody Henneberg-Stohmanna byly použity následující chemikálie:

- $\text{H}_2\text{SO}_4$  o koncentraci 0,255 mol/l,
- $\text{NaOH}$  o koncentraci 0,313 mol/l,
- indikátor methylčerveně,
- denaturovaný líh.

#### ENZYMATICKÉ STANOVENÍ VLÁKNINY

Pro enzymatické stanovení vlákniny byly použity tyto chemikálie:

- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  ( 11,876 g / l)
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (9,078 g / l)
- enzymy:  $\alpha$ -amylasa, proteasa, amylglukosidasa (výrobce Merck),

- denaturovaný líh,
- 95 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,
- 30 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,
- 2 % H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>,
- 30 % NaOH,
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> o koncentraci 0,025 mol/l,
- indikátor Tashiro.

### 8.2.2 Laboratorní pomůcky

Ke stanovení vlákniny byly použity následující laboratorní pomůcky:

- Reakční baňky se zábrusem o objemu 250 ml,
- topná hnízda,
- zpětné chladiče,
- nálevky filtrační Büchnerovy s odsávacími baňkami a vývěvami,
- elektrický vaříč,
- filtrační papír Filtrak 390,
- filtrační papír Nylon 66 Filter Membranes, velikost pórů 0,45 μm,
- skleněné filtrační kelímky,
- kádinky o objemu 800 ml,
- odměrné válce,
- sílonové síto s velikostí ok do 1 mm,
- laboratorní sušárna (Venticell, BMT ČR),
- elektrická muflova pec (Elektrické pece Svoboda, typ 018 LP),
- misky spalovací (porcelánové),
- vodní lázeň s třepacím nástavcem (Memmert),

- mixér (VORWERK THERMOMIX TM 31, Německo),
- pipety,
- exsikátor,
- Parnas – Wagnerova aparatura pro stanovení dusíku,
- ostatní běžné laboratorní pomůcky.

### 8.3 Postup práce

Před vlastním stanovením byly vzorky homogenizovány v mixéru, aby se dosáhlo rovnoměrné konzistence a bylo dosaženo homogenity vzorků. U všech vzorků byla stanovena sušina. Vlákna byla stanovena oxidační hydrolýzou, metodou podle Henneberg–Stohmanna a enzymatickou metodou. Naměřené hodnoty byly vyhodnoceny analýzou rozptylu (ANOVA) podle Snedecor and Cochran (1967) za použití statistického balíku Unistat, verze 5.1 a Office Excel Microsoft. [56]

#### 8.3.1 Stanovení sušiny

Do zvážené hliníkové misky předem vysušené při 105°C bylo naváženo 5 g vzorku. Vzorek v misce byl vysušen při 105°C do konstantního úbytku hmotnosti. Po ochlazení v exsikátoru byla miska zvážena s přesností na čtyři desetinná místa.

Obsah sušiny (hm. %):

$$S = \frac{m_1 - m_2}{m} * 100$$

m.....hmotnost navážky vzorku (g)

m<sub>1</sub>.....hmotnost misky se vzorkem po sušení při 105°C (g)

m<sub>2</sub>.....hmotnost vysušené prázdné misky (g)

#### 8.3.2 Stanovení vlákniny oxidační hydrolýzou

Pro stanovení vlákniny oxidační hydrolýzou bylo použito metody pro stanovení vlákniny oxidační hydrolýzou v krmivech. [54]

Byl navážen 1 g vzorku do reakční baňky, k obsahu baňky bylo přidáno 30 ml reakční směsi kyselin (80 % roztok kyseliny octové s koncentrovanou kyselinou dusičnou v poměru

10 : 1, která byla připravena těsně před použitím). Obsah baňky byl pod zpětným chladičem uveden během 3 minut do mírného varu. Po 20 minutách (měřeno od počátku varu) byla reakce ukončena a obsah baňky byl kvantitativně převeden pomocí 10 % roztoku kyseliny octové na filtr podložený sítím. Po odsátí roztoku kyseliny octové téměř do sucha byla pevná rezidua vzorku promývána horkou vodou až do vymizení kyselé reakce filtrátu za použití indikátoru methylčerveň a nakonec byla promyta acetonem.

Obsah filtru, po vymizení pachu po acetonu, byl sušen při 130°C po dobu přibližně 1 hodiny do konstantního úbytku. Po vychladnutí v exsikátoru byla pevná rezidua zvážena s přesností na čtyři desetinná místa. Poté byla zpopelněna v elektrické muflové peci za dostatečného přístupu vzduchu při teplotě 550°C po dobu 4 hodin. Po ochlazení byla opět zvážena s přesností na čtyři desetinná místa.

#### VÝPOČET

Obsah vlákniny (hrubé celulosy) v sušině analyzovaného vzorku (hm. %):

$$\% \text{ vlákniny} = \frac{m_2 - m_3}{m_1 - m_0} * 100$$

$m_0$ .....hmotnost vlhkosti vzorku (g)

$m_1$ .....hmotnost navážky vzorku (g)

$m_2$ .....hmotnost pevných reziduí vzorku po vysušení při 130°C (g)

$m_3$ .....hmotnost popela reziduí (g)

#### 8.3.3 Stanovení vlákniny podle Henneberg–Stohmanna

Pro stanovení vlákniny bylo použito metody podle Henneberg–Stohmanna. [54]

Byl navážen 1 g vzorku do reakční baňky, k obsahu baňky bylo přidáno 66,6 ml roztoku kyseliny sírové předem ohřáté na přibližně 95°C, obsah byl dokonale promíchán, aby se veškerá hmota dostala do styku s roztokem. Obsah baňky byl pod zpětným chladičem uveden během 2 minut do mírného varu. Po 30 minutách byla reakce ukončena a obsah baňky byl zředěn asi 17 ml studené vody a po usazení zbytku po hydrolýze, byl roztok nad

usazeninou opatrně filtrován dekantací vodou za sníženého tlaku Büchnerovou nálevkou, do které byl vložen filtr, podložený sítím. Nakonec byla převedena na filtr i usazenina a promývána horkou vodou do vymizení kyselé reakce na indikátor methylčerveně. Po posledním promytí byla odsáta k suchu.

Filtrací oddělená hmota byla převedena zpět do původní baňky, k obsahu baňky bylo přidáno 66,6 ml roztoku hydroxidu sodného předem zahřátého na teplotu přibližně 95°C, obsah baňky byl opět promíchán, aby se veškerá hmota dostala do styku s roztokem. Obsah baňky byl pod zpětným chladičem uveden během 2 minut do mírného varu. Po 30 minutách byla reakce ukončena a k obsahu baňky bylo přidáno 17 ml studené vody a byl filtrován v téže nálevce a stejným způsobem jako při první filtraci. Usazenina byla promývána nejdříve 8,3 ml studeného roztoku kyseliny sírové, pak horkou vodou až do negativní kyselé reakce a pak byla promyta acetonem.

Obsah filtru po vymizení pachu po acetonu byl sušen při 105°C po dobu přibližně 3 hodin do konstantního úbytku. Po vychladnutí v exsikátoru byla pevná rezidua zvážena s přesností na čtyři desetinná místa. Poté byla zpopelněna v elektrické muflové peci za dostatečného přístupu vzduchu při teplotě 550°C po dobu 4 hodin. Po ochlazení byla opět zvážena s přesností na čtyři desetinná místa.

## VÝPOČET

Obsah vlákniny (hm. %):

$$\% \text{ vlákniny} = \frac{m_1 - m_2}{m - m_0} * 100$$

$m_0$ .....hmotnost vlhkosti vzorku (g)

$m_1$ .....hmotnost pevných reziduí vzorku po vysušení při 105°C (g)

$m_2$ ..... hmotnost popela reziduí (g)

$m$ .....hmotnost navážky vzorku (g)

### 8.3.4 Enzymatické stanovení vlákniny

Pro enzymatické stanovení vlákniny bylo použito pracovního postupu, který je dodáván k soupravě enzymů a který byl modifikován podle vyhlášky č. 293/1997 Sb. [55]



- Byly připraveny čtyři reakční baňky. Do dvou byl navážen 1 g vzorku a zbývající dvě baňky bez navážky vzorku byly použity pro slepý pokus. Do každé baňky bylo přidáno 50 ml fosfátového pufru, který měl pH 6 (pufr byl připraven smícháním  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  v poměru 9 : 1) a obsah byl promíchán.
- Do všech baněk bylo přidáno 50  $\mu\text{l}$  roztoku  $\alpha$ -amylasy a směs byla důkladně promíchána. Baňky po přikrytí alobalem byly inkubovány 30 minut ve vodní lázni za stálého třepání při teplotě 95-100°C.
- Po ochlazení obsahu baněk na teplotu místnosti bylo upraveno pH na 7,5 za použití vodného roztoku NaOH (0,275 M NaOH).
- Do nádobek bylo přidáno 50  $\mu\text{l}$  proteasy, směs byla promíchána, baňky po přikrytí alobalem byly inkubovány při 60°C po dobu 30 minut ve vodní lázni za stálého třepání. Doba inkubace začala okamžikem, kdy obsah baněk dosáhl 60°C.
- Po ukončení inkubace byla směs opět ochlazena na teplotu místnosti a pH bylo upraveno pomocí vodného roztoku HCl (0,325 M HCl) na hodnotu 4,5.
- Do všech baněk bylo přidáno 150  $\mu\text{l}$  roztoku amyloglukosidasy, směs byla promíchána, baňky byly opět přikryty alobalem a směs byla inkubována 30 minut při 60°C ve vodní lázni za stálého třepání (inkubace začala tehdy, když obsah v baňce dosáhl 60°C).
- Rozpustná vláknina byla sražena přidáním 280 ml 80 % etanolu, který byl předeřhátý na 60°C a obsah byl promíchán. Vzniklá sraženina byla nechána 1 hodinu při pokojové teplotě pro usazení sraženiny. Tento proces byl usnadněn vložením nádobek do vodní lázně teplé 45°C. Po usazení byla sraženina dekantována přes filtr vodní vývěvou. Sraženina byla promyta dvakrát 10 ml 80 % ethanolu a dvakrát 10 ml acetonu. Zbytek na filtru, po vymizení pachu po acetonu, byl sušen při 130°C do konstantního úbytku. Po ochlazení byl zvážen na čtyři desetinná místa. Poté bylo provedeno stanovení popela a dusíku.

#### STANOVENÍ POPELA

Ze zbytků na čtyřech filtračních papírech, byly dva použity na stanovení popela, přičemž na jednom filtračním papíru byl zbytek ze vzorku a druhý tvořil zbytek ze slepého pokusu, byly kvantitativně převedeny do spalovací misky a zpopelněny v muflové peci při 550°C

po dobu 5 hodin a poté byly ochlazeny v exsikátoru a zváženy s přesností na čtyři desetinná místa.

### STANOVENÍ DUSÍKU

Nejdříve byl další zbytek na filtračním papíru ze vzorku a taktéž zbytek na filtračním papíru slepého pokusu zmineralizován tak, že vzorek byl kvantitativně převeden do mineralizační baňky a bylo přidáno 5 ml koncentrované  $H_2SO_4$ . Obsah baňky byl zahříván v digestoři při  $430^\circ C$  s přidáním závaží a chladiče. Když přestala směs pění, bylo přidáno přes nálevku asi 5 ml  $H_2O_2$  a obsah baňky byl zahříván až do vyčření roztoku. Po ochlazení byl obsah baňky kvantitativně převeden do 50 ml odměrné baňky a po ochladnutí byl doplněn destilovanou vodou po rysku.

Pro stanovení dusíku byla použita Parnas – Wagnerova aparatura a destilát byl jímán do titrační baňky s 50 ml 2 %  $H_3BO_3$ .

Do destilační baňky aparatury bylo odpipetováno 10 ml vzorku (pipeta byla vzorkem propláchnuta) a bylo přidáno 20 ml 30 % NaOH (čerstvě připraven). Po opláchnutí nálevky vodou a po uzavření kohoutů byl uvolněný amoniak předestilován s vodní parou. Destilace trvala 15 minut od počátku varu v destilační baňce. Po skončení destilace byly do titrační baňky přidány 3-4 kapky Tashiro indikátoru a byly titrovány 0,025 M  $H_2SO_4$  do stálého červenofialového zbarvení.

### VÝPOČET

Obsahu hrubé bílkoviny (hmot. %):

$$\% \text{ hrubé bílkoviny} = \frac{a * 10^{-3} * c * M_N * f_t * f_z * f_{př} * 100}{n}$$

a.....spotřeba odměrného roztoku  $H_2SO_4$  při titraci (ml)

c ( $H_2SO_4$ ).....skutečná koncentrace odměrného roztoku  $H_2SO_4$  (c = 0,02429 mol/l)

$M_N$ .....molární hmotnost dusíku ( $M_N = 14,01$  g/mol)

$f_t$ .....titrační faktor ( $f_t = 2$ )

$f_z$ .....zřed'ovací faktor ( $f_z = 5$ )

$f_{př}$ .....přepočítací faktor podle druhu potraviny (univerzální 6,25)

n.....navážka vzorku, která byla zmineralizována (g)

Hmotnost dusíku a popela byl vypočítán podle vzorce:

$$m_B = m_{BVZ} - m_{BS}$$

$$m_P = m_{PVZ} - m_{PS}$$

$m_B$ .....hmotnost dusíku (g)

$m_{BVZ}$ .....hmotnost dusíku ve vzorku (g)

$m_{BS}$ .....hmotnost dusíku – slepý pokus (g)

$m_P$ .....hmotnost popela (g)

$m_{PVZ}$ .....hmotnost popela ve vzorku (g)

$m_{PS}$ .....hmotnost popela – slepý pokus (g)

Obsah celkové vlákniny (TDF) byl vypočítán podle vzorce:

$$TDF = \frac{m - m_B - m_P}{m_{VZ} - m_0} * 100$$

$m$ .....hmotnost pevných reziduí vzorku po vysušení při 130°C (g)

$m_B$ .....hmotnost dusíku (g)

$m_P$ .....hmotnost popela (g)

$m_{VZ}$ .....hmotnost navážky vzorku (g)

$m_0$ .....hmotnost vlhkosti vzorku (g)

## 9 VÝSLEDKY A DISKUSE

Úkolem mé diplomové práce bylo ověřit různé metody stanovení vlákniny v mořských a sladkovodních řasách a vybrat nejvhodnější metodu pro tuto surovinu.

U všech vzorků byla stanovena vláknina oxidační hydrolyzou, metodou podle Henneberga-Stohmanna a enzymaticky, taktéž u všech vzorků byla stanovena sušina.

### 9.1 Stanovení sušiny

Průměrné hodnoty ze dvou stanovení jsou uvedeny v tabulce 5.

Tab. 5. Hodnoty sušiny u vzorků řas

Komerční název	Označení vzorku	Sušina v %
<b>Mořské hnědé řasy</b>		
Arame	A	90,32
Hiziki	H	88,53
Kombu	K	88,13
Wakame	W	88,07
Wakame instant	WI	90,56
<b>Mořské červené řasy</b>		
Dulse vločky	D	98,85
Nori vločky	NV	91,31
<b>Sladkovodní řasy</b>		
Chlorella Tabs	C	93,11
Spirulina Pacifica	S	96,29

Nebyl zjištěn výrazný rozdíl v obsahu sušiny mezi sladkovodními a červenými mořskými řasami. Nejvyšší obsah sušiny byl ve vzorcích Dulse vločky a Spirulina Pacifica, což je dáno charakterem produktů. V obou případech se jedná o sušené vločky z řas. Ve vzorcích

z hnědých mořských řas byly stanoveny nižší hodnoty sušiny oproti sladkovodním a červeným řasám. Wakame instant, Arame a Hiziki jsou sušené nudličky. Kombu a Wakame jež vykazovaly nejnižší hodnoty, byly sušené hrubé pláty mořských řas.

## 9.2 Stanovení vlákniny oxidační hydrolýzou

Při stanovení vlákniny oxidační hydrolýzou byla původní metoda modifikována. Místo mlynářského síta bylo pro usnadnění filtrace použito silonové síto s velikostí ok do 1 mm.

Stěžejním bodem této metody byla filtrace. Byly vyzkoušeny skleněné filtrační kelímky o velikosti S1 (u vzorku Arame) a S4 (u vzorku Kombu), ale z důvodu malého zachycení vlákniny, kdy velká část prošla, byla provedena filtrace u všech vzorků přes filtrační papír.

Byly vyzkoušeny filtrační papíry různé hustoty, ale z důvodu procházení vlákniny přes filtrační papír byl nakonec použit u všech vzorků hustý filtrační papír (Filtrak 390). U vzorku Wakame, Hiziki, Nori vločky byly pro zamezení procházení vlákniny použity dva filtrační papíry, u vzorku Wakame instant a Chlorella Tabs tři filtrační papíry. Nejvíce vlákniny procházelo u vzorku Spirulina Pacifica, kde musely být použity čtyři a u vzorku Dulse vločky dokonce pět filtračních papírů. Vzorky Kombu a Arame byly filtrovány pouze přes jeden filtrační papír.

Vzhledem k tomu, že při filtraci bylo použito u některých vzorků více filtračních papírů, byla doba promývání horkou vodou dlouhá, taktéž doba sušení při teplotě 130°C byla různá a pohybovala se od 1 do 4 hodin.

Nejvíce vlákniny obsahovaly hnědé řasy, jejich hodnoty se pohybovaly v rozmezí 12,73-23,01 %, přičemž nejvyšší hodnota byla zjištěna ve vzorku Wakame instant a nejnižší ve vzorku Kombu. Vzorek Wakame vykazoval téměř o 7 % nižší hodnotu než Wakame instant, přičemž oba vzorky byly ze stejné řasy - *Undaria pinnatifida*. Sladkovodní řasy obsahovaly mnohem méně vlákniny. Nejnižší hodnota byla zjištěna ve vzorku z červené mořské řasy Dulse vločky. Výsledek mohl být značně ovlivněn průchodností vlákniny přes filtrační papír i když bylo použito více filtračních papírků tak mohlo dojít ke ztrátám.

Při stanovení vlákniny oxidační hydrolýzou v řasách bylo obtížné provádění filtrace. Po vyzkoušení skleněných filtračních kelímků a filtračních papírů různé hustoty byl nakonec použit hustý filtrační papír (Filtrak 390). I v tomto případě však u většiny vzorků

procházela vláknina přes filtrační papír, proto bylo použito více vrstev filtračních papírů. Tato skutečnost mohla způsobit nepřesnosti a ovlivnění výsledků.

Průměrné hodnoty ze tří stanovení jsou uvedeny v tabulce 6.

Tab. 6. Výsledky stanovení vlákniny v řasách oxidační hydrolyzou

Komerční název	Označení vzorku	Obsah vlákniny v %
<b>Mořské hnědé řasy</b>		
Arame	A	13,23 ± 0,32
Hiziki	H	16,58 ± 0,19
Kombu	K	12,73 ± 0,79
Wakame	W	16,72 ± 1,12
Wakame instant	WI	23,01 ± 0,47
<b>Mořské červené řasy</b>		
Dulse vločky	D	0,71 ± 0,08
Nori vločky	NV	11,27 ± 0,95
<b>Sladkovodní řasy</b>		
Chlorella Tabs	C	1,77 ± 0,26
Spirulina Pacifica	S	2,67 ± 1,62

### 9.3 Stanovení vlákniny podle Henneberg–Stohmanna

V případě stanovení vlákniny podle Henneberg-Stohmanna byla původní metoda také modifikována použitím třikrát menší navážky.

Stěžejním bodem této metody bylo oddělení pevného podílu z filtračního papíru po filtraci při kyselé hydrolyze.

Po alkalické hydrolyze byla u všech vzorků provedena filtrace na jednom filtračním papíru, kromě vzorku Dulse vločky, kde bylo použito dvou filtračních papírů.

Výsledky stanovení podle Henneberg-Stohmanna jsou uvedeny v tabulce 7.

Tab. 7. Výsledky stanovení vlákniny v řasách podle Henneberg-Stohmanna

Komerční název	Označení vzorku	Obsah vlákniny v %
<b>Mořské hnědé řasy</b>		
Arame	A	8,05 ± 1,29
Hiziki	H	10,80 ± 0,33
Kombu	K	3,78 ± 0,26
Wakame	W	3,44 ± 0,30
Wakame instant	WI	5,61 ± 0,72
<b>Mořské červené řasy</b>		
Dulse vločky	D	1,32 ± 0,28
Nori vločky	NV	3,44 ± 0,48
<b>Sladkovodní řasy</b>		
Chlorella Tabs	C	3,28 ± 0,16
Spirulina Pacifica	S	2,25 ± 0,25

Ve shodě s předchozí metodou bylo nejvíce vlákniny obsaženo v hnědých řasách. Hiziki a Arame, jejichž hodnoty mnohonásobně převyšovaly koncentraci vlákniny v ostatních hnědých řasách. Mezi mořskými červenými a sladkovodními řasami nebyl zjištěn výrazný rozdíl. U obou skupin byly zjištěny nízké hodnoty vlákniny. Nejméně vlákniny bylo obsaženo ve vzorku Dulse vločky. Nižší výsledek mohl být opět ovlivněn průchodností přes filtrační papír po alkalické hydrolýze, kdy muselo být použito více filtračních papírů.

#### 9.4 Enzymatické stanovení vlákniny

Při enzymatickém stanovení vlákniny v řasách byla původní metoda taktéž modifikována. Oproti původní metodice, byl původní pufr připravený smícháním  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$

a  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nahrazen pufrem, pro jehož přípravu bylo použito směsi smícháním  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  v poměru 9 : 1.

Tato metoda umožňuje vedle celkové, stanovit i frakce rozpustné a nerozpustné vlákniny. Při stanovení rozpustné vlákniny byly vyzkoušeny skleněné filtrační kelímky o různé hustotě. Z důvodu procházení nerozpustné vlákniny byla nakonec použita skleněná fritta o velikosti S4. Vzhledem k tomu, že docházelo k jejímu ucpání, nemohla být filtrace dokončena a nerozpustná vláknina nebyla stanovena.

Velmi problematická u této metody byla úprava pH na hodnotu 4,5 zejména u vzorku Wakame a Wakame instant, vzhledem k tvorbě hustého gelu. Filtrace u vzorků Arame, Wakame instant a Nori vločky trvala dlouho. Pro urychlení byla provedena filtrace ještě teplého vzorku. Doba sušení při teplotě  $130^\circ\text{C}$  se pohybovala od 3 do 6 hodin, protože u vzorků Wakame, Kombu a Hiziki se po enzymatickém rozkladu a následném sražení ethanolom vytvořila soudržná hmota, která vyžadovala delší dobu sušení i po nastříhání na menší kousky.

I u této metody bylo nejvíce vlákniny zjištěno v hnědých mořských řasách. Nejvíce vlákniny z hnědých řas obsahovaly vzorky Arame a Hiziki, nejméně vzorek Kombu. Z červených mořských řas obsahoval nejvíce vlákniny vzorek Nori vločky, jehož hodnota byla srovnatelná s hodnotami v hnědých řasách. Sladkovodní řasy obsahovaly vlákniny nejméně. Nejnižší hodnota ze všech vzorků byla zjištěna ve vzorku ze sladkovodní řasy Spirulina Pacifica.

Při enzymatickém stanovení vlákniny v řasách bylo obtížné opět provádění filtrace. Původní metoda předpokládá použití filtračního zařízení FIBERTEC E, které ale nebylo součástí vybavení laboratoře. Součástí stanovení celkové vlákniny zahrnovalo stanovení popela a dusíku.

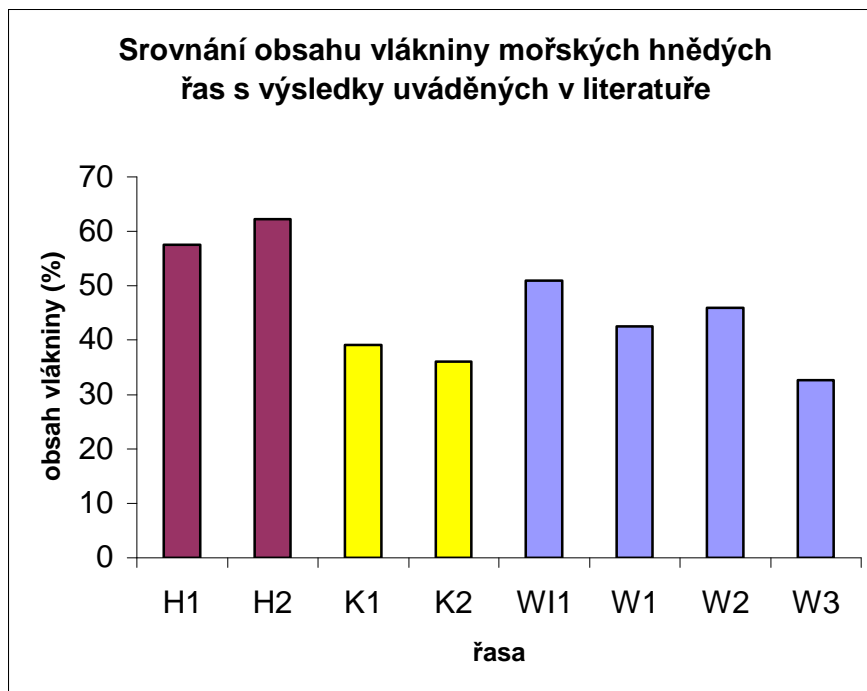
Výsledky stanovení vlákniny enzymaticky v řasách jsou uvedeny v tabulce 8.



Tab. 8. Výsledky stanovení vlákniny v řasách enzymaticky

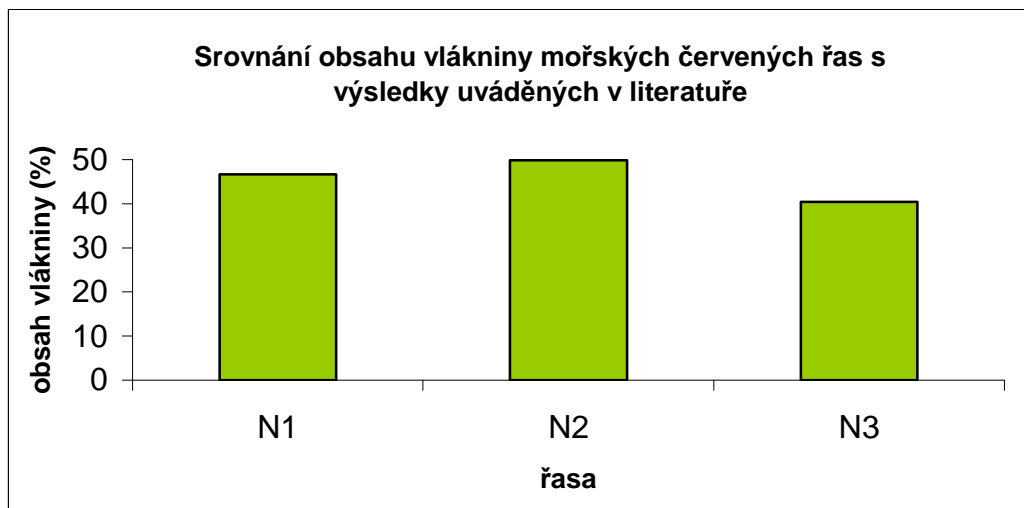
Komerční název	Označení vzorku	Obsah vlákniny v %
<b>Mořské hnědé řasy</b>		
Arame	A	59,81 ± 0,02
Hiziki	H	57,50 ± 1,24
Kombu	K	39,15 ± 4,01
Wakame	W	42,57 ± 1,47
Wakame instant	WI	50,95 ± 3,12
<b>Mořské červené řasy</b>		
Dulse vločky	D	32,38 ± 0,61
Nori vločky	NV	46,73 ± 0,33
<b>Sladkovodní řasy</b>		
Chlorella Tabs	C	10,86 ± 0,16
Spirulina Pacifica	S	8,49 ± 0,86

U této metody bylo možné srovnat vyšetřené obsahy vlákniny u některých řas s publikovanými údaji. Na obrázcích 12 a 13 je uvedeno srovnání obsahů vlákniny v řasách.



Obr. 12. Srovnání obsahu vlákniny v mořských hnědých řasách.

Na obrázku 12 jsou srovnány zjištěné hodnoty vlákniny v řasách Hiziki (H1), Kombu (K1), Wakame instant (WI1), Wakame (W1) s hodnotami publikovanými podle Dawczynski [57] v řasách Hiziki (H2), Kombu (K2) a Wakame (W2) a podle Sánchez-Machado [58] v řase Wakame (W3). Řasa Hiziki obsahovala 57,50 % vlákniny, což je méně než se uvádí v literatuře (Hiziki obsahuje 62,3 % vlákniny). Řasa Kombu obsahovala 39,15 % vlákniny, což v porovnání s výsledky v literatuře je více (Kombu obsahuje 36 % vlákniny). Řasa Wakame obsahovala 42,57 %, což je v souladu s výsledky, Wakame instant 50,95 % a tato hodnota je vyšší než které jsou uváděny v literatuře (Wakame obsahuje 45,9 % a 32,6 % vlákniny).



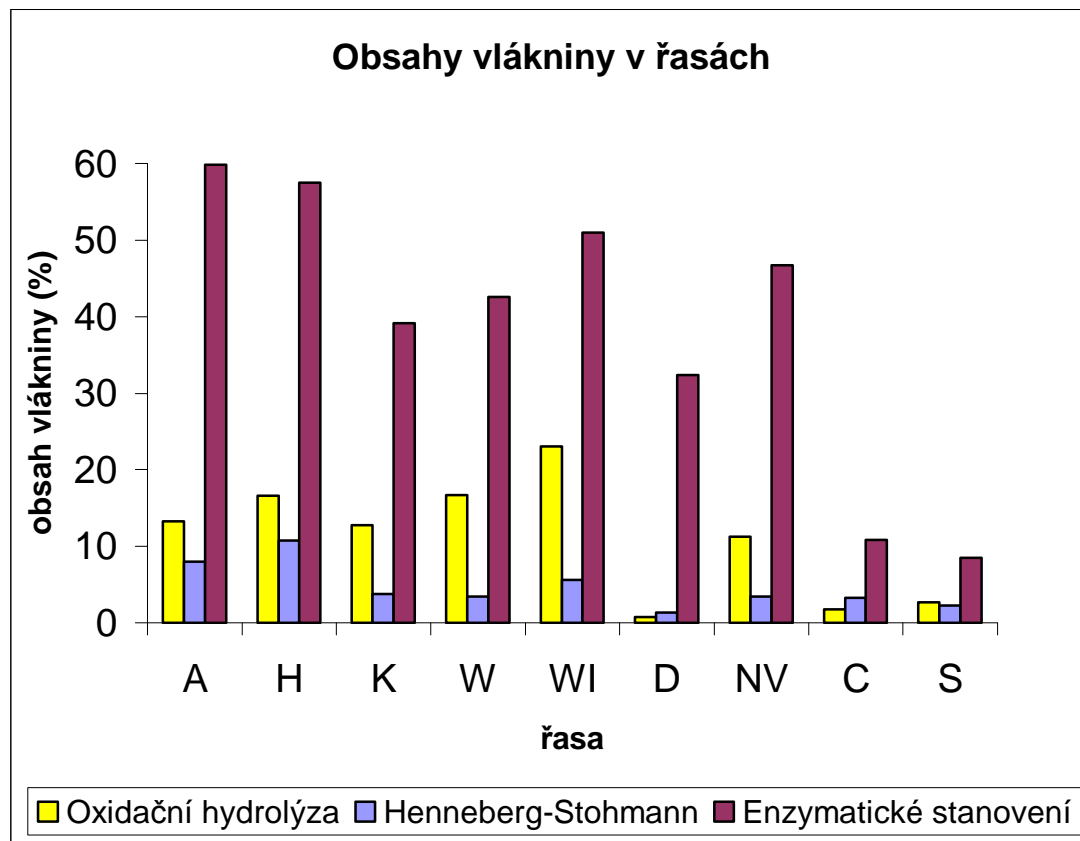
Obr. 13. Srovnání obsahu vlákniny v mořských červených řasách.

Na obrázku 13 je srovnán obsah vlákniny v mořské červené řase Nori vločky (N1) s hodnotami publikovanými podle Dawcynski [57] v řase Nori (N2) a podle Sánchez-Machado [58] v řase Nori (N3). Řasa Nori obsahovala 46,73 % vlákniny, tato hodnota se nachází mezi hodnotami, které jsou uváděny v literatuře (Nori obsahuje 49,8 % a 40,5 % vlákniny).

## 9.5 Vyhodnocení použitých metod

Všechny tři použité metody na stanovení vlákniny byly velmi náročné na čas. Při stanovení oxidační hydrolyzou bylo provádění filtrace složité. Z důvodu procházení vlákniny bylo nutné při filtraci použít více filtračních papírů. Taktéž při enzymatickém stanovení se vyskytl problém při filtraci, která byla zdlouhavá, neboť některé vzorky řas obsahovaly velké množství rozpustné vlákniny, která ztěžovala filtraci. U metody podle Henneberg-Stohmanna bylo obtížné oddělování vzorku z filtračního papíru po kyselé hydrolyze.

Na obrázku 14 jsou uvedeny obsahy vlákniny v řasách stanovené jednotlivými metodami.



Obr. 14. Obsahy vlákniny v řasách.

Nejvyšších výsledků bylo dosaženo při enzymatickém stanovení, nejnižších výsledků bylo dosaženo u metody podle Henneberg-Stohmanna.

Při stanovení oxidační hydrolýzou bylo nejvíce vlákniny ve vzorcích Wakame instant (23,01 %), Wakame (16,72 %) a Hiziki (16,58 %), nejméně vlákniny bylo obsaženo ve vzorku Dulse vločky (0,71 %). Podle metody Henneberga-Stohmanna bylo nejvíce vlákniny obsaženo ve vzorku Hiziki (10,80 %) a nejméně ve vzorku Dulse vločky (1,32 %). Obsah vlákniny stanovený enzymatickou metodou byl nejvyšší ve vzorcích Arame (59,81 %) a Hiziki (57,50 %), nejmenší obsah vlákniny byl ve vzorku Spirulina Pacifica (8,49 %).

## ZÁVĚR

Stanovit obsah vlákniny v řasách je složité, protože je tvořena komplexem různých složek. Pro její stanovení jsou proto používány různé analytické metody. V této práci byly vybrány tři metody. Dvě z nich – oxidační hydrolýza a metoda podle Henneberga-Stohmanna jsou používány pro stanovení vlákniny v krmivech, ale vzhledem k charakteru vzorků byly vyzkoušeny i v řasových produktech. Třetí je metoda pro stanovení vlákniny v potravinách podle standartu EU, která je založená na specifické enzymatické hydrolýze a umožňuje stanovit vedle celkové vlákniny i rozpustné a nerozpustné frakce. Všechny tři metody jsou časově náročné a vyžadují určitou rutinu a přesnost práce v laboratoři. Pro první dvě metody stačí běžné laboratorní vybavení, zatímco třetí metoda je finančně náročná z důvodu vysoké ceny použitých enzymů.

Srovnání výsledků těchto tří metod je obtížné, protože oxidační hydrolýza a metoda podle Henneberga-Stohmanna jsou gravimetrické metody, kdy každá z nich používá jiné činidlo, což vede ke srážení jiné části vlákniny. Enzymatickou metodou lze kombinací různých enzymů stanovit i rozpustnou vlákninu. Umožňuje tak získat hodnoty koncentrací dalších látek s funkcí vlákniny, které se předchozími metodami stanovit nedají. Obecně lze říci, že u všech tří metod bylo zjištěno nejvíce vlákniny v hnědých mořských řasách. Pro první dvě metody neexistují v literatuře údaje pro hodnoty vlákniny v řasách. Při enzymatickém stanovení byly obsahy vlákniny některých řas ve shodě s publikovanými údaji, zejména u řasy Wakame a Nori vložky. Bylo zjištěno, že oxidační metodou bylo nejvíce vlákniny v hnědé mořské řase Wakame instant, nejméně v červené mořské řase Dulse vložky. Metodou podle Henneberga-Stohmanna bylo nejvíce vlákniny zjištěno v hnědé mořské řase Hiziki, nejméně opět v řase Dulse vložky. Enzymatickou metodou bylo zjištěno nejvíce vlákniny v hnědé mořské řase Arame, nejméně v sladkovodní řase Spirulina Pacifica.

Pro stanovení vlákniny v řasách bych doporučovala enzymatickou metodu, protože použitím různých enzymů je možné stanovit větší rozsah jednotlivých složek vlákniny. Vláknina je nesporně důležitým nutričním faktorem s prokázanými pozitivními účinky na lidské zdraví, je proto nutné se touto problematikou dále zabývat.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] BUŇKA, F., NOVÁK, V., KADIDLOVÁ, H. *Ekonomika výživy a výživová politika I*. 1 vyd. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2006. s. 52-56. ISBN 80-7318-429-X.
- [2] *Vláknina potravy a nutriční hodnota potravin* [online]. [cit. 2008-03-03]. Dostupný z: <<http://www.agrovzdelavani.cz/default.asp?ch=207&ids=1979&typ=1&val=31558>>.
- [3] Vyhláška 450/2004 Sb., o označování výživové hodnoty potravin.
- [4] *Dietary Reference Intakes Proposed Definition of Dietary Fiber* [online]. [cit. 2008-02-20]. Dostupný z:< [http://www.nap.edu/catalog.php?record\\_id=10161](http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=10161)>.
- [5] ESPOSITO, F., ARLOTTI, G., BONIFATIA, M., NAPOLITANO, A.,VITALE, D., FOGLIANO, V. *Antioxidant activity and dietary fibre in durum wheat bran by-products*. Food Research International 2005. 38, 1167-1173.
- [6] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin I*. 1 vyd. Praha: OSSIS, 1999. s. 200, 219-235, 241-245. ISBN 80-902391-3-7.
- [7] *Vláknina* [online]. [cit. 2008-03-03]. Dostupný z: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Vl%C3%A1knina>>.
- [8] LÍNKOVÁ, Eugenie. *Vláknina aneb i střeva potřebují svůj kartáček*. *Potravinářský zpravodaj*, 2008, 1, s. 21.
- [9] *Vlákniny* [online]. [cit. 2008-03-03]. Dostupný z: <[http://www.pharmanews.cz/2007\\_02/vlakniny.html](http://www.pharmanews.cz/2007_02/vlakniny.html)>.
- [10] *Potravinářská vláknina* [online]. [cit. 2008-03-03]. Dostupný z: <<http://www.vupp.cz/czvupp/publik/06poster/06mbVlakninaPresentace.pdf>>
- [11] *Nutriose rozpustná vláknina*. *Potravinářská revue*, 2006, 1, s.21.
- [12] *Dietní vláknina-nezbytnost každodenního stravování* [online]. [cit. 2008-03-03]. Dostupný z: <<http://www.ekozym.cz/index.php?id=195>>.

- [13] *Vlákniny ve výživě* [online]. [cit. 2008-03-03]. Dostupný z: <<http://www.fzv.cz/web/fzv-radi/lexikon/vlkniny>>.
- [14] PELIKÁN, Miloš. Obiloviny jako funkční potravina. *Potravinářská revue*, 2005, 4, s. 14.
- [15] ERKKILA, A. T., HERRINGTON, D. M., MOZAFFARIAN, D., LICHTENSTEIN, A. H. *Cereal fiber and whole-grain intake are associated with reduced progression of coronary-artery atherosclerosis in postmenopausal women with coronary artery disease*. *American Heart Journal* 2005. 150, 94-101.
- [16] *Vláknina a celozrnné pečivo v potravě zpomalují progresi aterosklerózy* [online]. [cit. 2008-03-04]. Dostupný z: <[http://nova.medicina.cz/verejne/clanek.dss?s\\_id=6617&s\\_rub=118&s\\_sv=1&s\\_ts=39504,4674768519](http://nova.medicina.cz/verejne/clanek.dss?s_id=6617&s_rub=118&s_sv=1&s_ts=39504,4674768519)>.
- [17] ZADÁK, Z. *Výživa v intenzivní péči*. Praha, Grada publishing a. s., 2002. ISBN 80-247-0320-3.
- [18] *Význam dietní vlákniny ve výživě* [online]. [cit. 2007-12-12]. Dostupný z: <[http://nova.medicina.cz/odborne/clanek.dss?s\\_id=602](http://nova.medicina.cz/odborne/clanek.dss?s_id=602)>.
- [19] *Vláknina a její role ve zdravém stravování* [online]. [cit. 2008-03-04]. Dostupný z: <<http://www.eufic.org/article/cs/nutrition/fibre/artid/vlknina-zdravy-stravovani/>>.
- [20] *Dietary Fiber Intake and Risk of Colorectal Cancer* [online]. [cit. 2008-02-20]. Dostupný z: <<http://jama.ama-assn.org/cgi/content/full/294/22/2849?submit.y=6&submit.x=105&gca=294%2F22%2F2849&>>.
- [21] *Dietary Fiber and Risk of Coronary Heart Disease* [online]. [cit. 2008-02-20]. Dostupný z: <<http://archinte.ama-assn.org/cgi/reprint/164/4/370.pdf>>.
- [22] *Vláknina z ovoce a cereálií snižuje riziko kardiovaskulárních nemocí* [online]. [cit. 2008-02-20]. Dostupný z: <[http://nova.medicina.cz/odborne/clanek.dss?s\\_id=6014&s\\_ts=39524,3943287037](http://nova.medicina.cz/odborne/clanek.dss?s_id=6014&s_ts=39524,3943287037)>.
- [23] *Dietary Fiber and Blood Pressure* [online]. [cit. 2008-02-20]. Dostupný z: <<http://archinte.ama-assn.org/cgi/reprint/165/2/150.pdf>>

- [24] *Propagaci celozrnných výrobků je třeba znásobit* [online]. [cit. 2008-03-04]. Dostupný z: <<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=150&ch=13&typ=1&val=59092>>.
- [25] *Na cholesterol bez léků* [online]. [cit. 2008-03-04]. Dostupný z: <<http://www.novinky.cz/clanek/132066-na-cholesterol-bez-leku.html>>.
- [26] KOHOUT, P., CHOČENSKÁ, E. Průzkum příjmu vlákniny v České republice. *Výživa a potraviny*, 2007, 5, s.129.
- [27] PÉREZ, A. A., FARÍAS, S. S., STROBL, A. M., PÉREZ, L. B., LÓPEZ, C. M., PINEIRO, A., ROSES, O., ANGÉLICA, M. *Levels of essential and toxic elements in Porphyra columbina and Ulva sp. from San Jorge Gulf, Patagonia Argentina*. *Science of The Total Environment* 2007. 376, 51-59.
- [28] BOCANEGRA, A., NIETO, A., BLAS, B., SÁNCHEZ-MUNIZ, F. J. *Diets containing a high percentage of Nori or Konbu algae are well-accepted and efficiently utilised by growing rats but induce different degrees of histological changes in the liver and bowel*. *Food and Chemical Toxicology* 2003. 41, 1473-1480.
- [29] ORTIZ, J., ROMERO, N., ROBERT, P., ARAYA, J., LOPEZ-HERNANDEZ, J., BOZZO, C., NAVARRETE, E., OSORIO, A., RIOS, A. *Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds Ulva lactuca and Durvillaea antarctica*. *Food Chemistry* 2006. 99, 98-104.
- [30] URBANO, M. G., GONI, I. *Bioavailability of nutrients in rats fed on edible seaweeds, Nori (Porphyra tenera) and Wakame (Undaria pinnatifida), as a source of dietary fibre*. *Food Chemistry* 2002. 76, 281-286.
- [31] *Mořské řasy jako cenný doplněk stravy* [online]. [cit. 2008-03-15]. Dostupný z: <<http://www.enviport.cz/morske-rasy-jako-cenny-dopl.aspx>>.
- [32] KALINA, T., VÁŇA, J. *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*. Praha, Karolinum, 2005. ISBN 80-246-1036-1.
- [33] McHUGH, Dennis. *A guide to the seaweed industry*. University of New South Wales, Australian Defence Force Academy, Canberra, Australia, 2003. ISBN: 92-5-104958-0.



- [34] *Řasa Arame* [online]. [cit. 2008-03-15]. Dostupný z: <<http://www.onelove.cz/view.php?navezclanku=rasa-arame&cislocclanku=2005082801>>.
- [35] *Řasa Hiziki* [online]. [cit. 2008-03-15]. Dostupný z: <<http://www.onelove.cz/view.php?navezclanku=rasa-hiziky&cislocclanku=2005082501>>.
- [36] *Řasa Hiziki* [online]. [cit. 2008-05-3]. Dostupný z: <<http://vitainfo.cz/eshop/detail.php?idzb=99>>.
- [37] *Mořské řasy: Kombu, Nori, Arame a Wakame* [online]. [cit. 2008-03-15]. Dostupný z: <<http://www.victorie.cz/magazin/zdrava-vyziva/morske-rasy--kombu--nori--arame-a-wakame.aspx>>.
- [38] *Řasa Wakame* [online]. [cit. 2008-03-15]. Dostupný z: <<http://www.onelove.cz/view.php?cislocclanku=2005091601>>.
- [39] *Mořská řasa Dulse* [online]. [cit. 2008-03-15]. Dostupný z: <<http://www.ikona.cz/zdravi/dulse.html>>.
- [40] *Řasa Dulse* [online]. [cit. 2008-05-03]. Dostupný z: <<http://vitainfo.cz/eshop/detail.php?idzb=62>>.
- [41] PRUGAR, J. a kol. *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha, 2008. s. 300. ISBN 78-80-86576-28-2.
- [42] *Spirulina-potrava pro další biliony let-potrava budoucnosti* [online]. [cit. 2008-03-15]. Dostupný z: <<http://www.finclub.cz/web/index.php?src=ref&id=195>>.
- [43] *Řasa Chlorella (Chlorella kessleri) a CGF (Chlorella růstový faktor)* [online]. [cit. 2008-3-15]. Dostupný z: <<http://www.puvodniprameny.cz/download/Chlorella.pdf>>.
- [44] *Chlorelový-růstový faktor* [online]. [cit. 2008-03-15]. Dostupný z: <<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=150&ch=13&typ=1&val=36692>>.
- [45] *Řasa Chlorella* [online]. [cit. 2008-05-03]. Dostupný z: <<http://www.favea.info/32007/rasy.html>>.

- [46] *Spirulina* [online]. [cit. 2008-03-15]. Dostupný z:  
<<http://www.2az.org/spirulina.html>>.
- [47] CHRONAKIS, I. S., GALATANU, A. N., NYLANDER, T., LINDMAN, B. *The behaviour of protein preparations from blue-green alge (Spirulina platensis strain Pacifica) at the air/water interface*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 2000. 173, 181-192.
- [48] *Informace SZPI pro provozovatele, kteří uvádějí do oběhu výrobky s obsahem mořské sinice Spirulina* [online]. [cit. 2008-03-04]. Dostupný z:  
<<http://www.szpi.gov.cz/cze/aktuality/article.asp?id=61424&cat=2176&ts=3ec72>>.
- [49] MARINHO-SORIANO, E., FONSECA, P.C., CARNEIRO, M.A.A., MOREIRA, W.S.C. *Seasonal variation in the chemical composition of two tropical seaweeds*. Bioresource Technology 2006. 97, 2402–2406.
- [50] *The nutritional and medicinal value of seaweeds used in chinese medicine* [online]. [cit. 2008-02-20]. Dostupný z:  
<<http://www.itmonline.org/arts/seaweed.htm>>.
- [51] *Význam vlákniny ve výživě a krmení hospodářských zvířat* [online]. [cit. 2008-03-04]. Dostupný z: <[http://www.af.mendelu.cz/ustav/222/pages/vyuka/vyziva/otazky\\_vypr/08\\_vlaknina\\_krcova\\_p.doc](http://www.af.mendelu.cz/ustav/222/pages/vyuka/vyziva/otazky_vypr/08_vlaknina_krcova_p.doc)>.
- [52] *Sacharidy a metody jejich stanovení* [online]. [cit. 2008-03-04]. Dostupný z:  
<[http://www2.zf.jcu.cz/public/departments/koz/studium/predmety/vyziva\\_zvirat/01\\_metody\\_stanoveni/02\\_sacharidy.ppt#1](http://www2.zf.jcu.cz/public/departments/koz/studium/predmety/vyziva_zvirat/01_metody_stanoveni/02_sacharidy.ppt#1)>.
- [53] KNUDSEN, K. E. B. *The nutritional significance of “dietary fibre” analysis*. Animal Feed Science and Technology 2001. 90, 3-20.
- [54] JAVORSKÝ, P. *Chemické rozborý v zemědělských laboratořích*. České Budějovice MZV ČSR, 1987.
- [55] Vyhláška 293/1997 Sb., o způsobu výpočtu a uvádění výživové (nutriční) hodnoty potravin a o značení údaje o možném nepříznivém ovlivnění zdraví.
- [56] SNEDECOR, G. W., COCHRAN, W. G. *Statistical Methods*. Iowa: 6 th ed. Iowa State University Press, 1967.

- [57] DAWCZYNSKI, CH., SCHUBERT, R., JAHREIS, G. *Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products*. Food Chemistry 2007. 103, 891-899.
- [58] SÁNCHEZ-MACHADO, D. I., LÓPEZ-CERVANTES, J., LÓPEZ-HERNÁNDEZ, J., PASEIRO-LOSADA, P., SIMAL-LOZANO, J. *Determination of the uronic acid composition of seaweed dietary fibre HPLC*. Biomedical Chromatography 2004. 18, 90-97.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

Ang.	Anglicky
Sb.	Sbírky
AACC	American Association of Cereal Chemists
CO <sub>2</sub>	Oxid uhličitý
H <sub>2</sub>	Vodík
HMG-CoA reductasa	3-hydroxy-3-methylglutaryl-koenzym A-reduktasa
Ca	Vápník
Mg	Hořčík
K	Draslík
Fe	Železo
Zn	Zinek
CGF	Chlorelový růstový faktor
AV	Akademie věd
K <sup>+</sup>	Draselné ionty
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Amnonné ionty
Na	Sodík
Sr	Stroncium
Ba	Baryum
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Uhličitan sodný
CaCl <sub>2</sub>	Chlorid vápenatý
NDF	Neutrálnědetergentní vláknina
ADF	Acidodetergentní vláknina
ADL	Acidodetergentní lignin
AOAC	Association of Official Analytical Chemists

---

$\text{CH}_3\text{COOH}$	Kyselina octová
$\text{HNO}_3$	Kyselina dusičná
$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$	Aceton
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Dodekahydrát dihydrogenfosforečnan sodný
$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	Dihydrogenfosforečnan sodný
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	Dodekahydrát hydrogenfosforečnan sodný
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	Dihydrogenfosforečnan draselný
$\text{NaOH}$	Hydroxid sodný
$\text{HCl}$	Kyselina chlorovodíková
$\text{H}_2\text{SO}_4$	Kyselina sírová
$\text{H}_2\text{O}_2$	Peroxid vodíku
$\text{H}_3\text{BO}_3$	Kyselina boritá

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr. 1.	Primární struktura celulosy.....	14
Obr. 2.	Základní struktura pektinů.....	17
Obr. 3.	Fenylpropanové stavební jednotky ligninu.....	18
Obr. 4.	Základní struktura ligninu.....	19
Obr. 5.	Hiziki.....	30
Obr. 6.	Wakame.....	31
Obr. 7.	Dulse.....	31
Obr. 8.	Chlorella.....	33
Obr. 9.	Agarosa.....	35
Obr. 10.	Karabiosa.....	36
Obr. 11.	Struktura úseku M-G alginové kyseliny.....	38
Obr. 12.	Srovnání obsahu vlákniny v mořských hnědých řasách.....	58
Obr. 13.	Srovnání obsahu vlákniny v mořských červených řasách.....	59
Obr. 14.	Obsahy vlákniny v řasách.....	60

**SEZNAM TABULEK**

Tab. 1.	Členění dietní vlákniny.....	13
Tab. 2.	Rozdělení respondentů podle příjmu vlákniny.....	25
Tab. 3.	Obsah vlákniny ve 100 g vybraných potravin.....	27
Tab. 4.	Seznam a označení použitých vzorků.....	43
Tab. 5.	Hodnoty sušiny u vzorků řas.....	52
Tab. 6.	Výsledky stanovení vlákniny v řasách oxidační hydrolýzou.....	54
Tab. 7.	Výsledky stanovení vlákniny v řasách podle Henneberg-Stohmanna.....	55
Tab. 8.	Výsledky stanovení vlákniny v řasách enzymaticky.....	57

